CONSEIL PERMANENT INTERNATIONAL POUR
L'EXPLORATION DE LA MER

RAPPORTS
ET
PROCÈS-VERBAUX DES RÉUNIONS

VOLUME LIII

THE ESTIMATION OF PHOSPHATES AND NITROGENOUS COMPOUNDS IN SEA WATER

REPORTS OF THE PROCEEDINGS OF A SPECIAL MEETING
HELD ON JUNE 4TH 1928 IN COPENHAGEN
AND A MEETING HELD IN OSLO IN OCTOBER 1928

EN COMMISSION CHEZ
ANDR. FRED. HØST & FILS
COPENHAGUE

Mars 1929

COPENHAGUE – IMPRIMERIE BIANCO LUNO

CONTENTS

Page

Prefatory Note by Henry G. Maurice 4

Lectures delivered on June 4th, 1928, in Copenhagen 5

I. K. Brandt. Phosphate und Stickstoffverbindungen als Minimumstoffe für die Produktion im Meere 5

English Summary 26

II. Kurt Buch. Über die Bestimmungen von Stickstoffverbindungen und Phosphaten im Meerwasser 36

English Summary 51

III. J. Giral. Quelques observations aux thèmes: Méthodes pour l'étude des phosphates et des matières azotées dans l'eau de mer 53

IV. H. W. Harvey. Methods of Estimating Phosphates and Nitrates in Seawater 68

V. E. Schreiber. Die Methoden einer physiologischen Meerwasseranalyse 75

English Summary 79

VI. Oscar Sund. The Determination of Nitrates in Sea Water 80

VII. H. Wattenberg. Die Phosphat- und Nitrat-Untersuchungen der Deutschen Atlantischen Expedition auf V.S. "Meteor" 90

English Summary 93

Reports on the Results of the special Investigations conducted at the University of Oslo in October 1928 95

Concerning Methods for Estimating Phosphates and Nitrates in Solution in Sea Water 96

Über Methoden zur Bestimmung von in Seewasser gelösten Phosphaten und Nitraten 97

PREFATORY NOTE

At its Meeting held in Stockholm in May, 1927, the International Council for the Exploration of the Sea decided that during the following meeting two days should be devoted to the discussion of scientific problems of importance to the Council as a body engaged in Marine Research. This arrangement is no more than a resumption of pre-war practice interrupted by the necessity under which the Council found itself after the war of extending the area of its operations to correspond to an increased membership, and reorganising the committees, their programmes and the routine work generally. The new arrangements, evolved and improved in the light of experience, are now working so smoothly that the Council found itself in a position again to devote time to Scientific Meetings, at which representatives of all the participating countries can jointly discuss scientific problems of general interest.

The following report contains Lectures delivered on June 4th in Copenhagen on Methods for the Determination of Phosphates and Nitrates in Sea Water. These discussions were followed by special investigations conducted, by the courtesy of Professor HJORT, in his Laboratory at the University of Oslo, and the Report on the results of those investigations is also embodied in this volume as a concluding chapter intended to focus the results of all the discussions.

November 22nd, 1928.

HENRY G. MAURICE.

LECTURES DELIVERED ON JUNE 4TH. 1928. IN COPENHAGEN

I. Phosphate und Stickstoffverbindungen als Minimumstoffe für die Produktion im Meere.

Von

K. Brandt.

I.

Durch die von HENSEN 1887 begründete quantitative Planktonforschung war schon im vorigen Jahrhundert eine Reihe von wichtigen Tatsachen festgestellt, die der Erklärung bedurften. Flussmündungen, seichte Küstengebiete und auch Meeresteile von geringer Tiefe, z. B. Nordsee und westliche Ostsee, erwiesen sich im allgemeinen reicher an Plankton als unter fast denselben physikalischen Bedingungen (Licht und Wärme) nahe gelegene tiefe Meeresgebiete zur gleichen Zeit. Abgesehen von vereinzelten Ausnahmen, ist ferner in kühleren und kalten Meeren mehr Plankton vorhanden als in tropischen und subtropischen. Eine auffallende Ausnahme bildet z. B. die nördlich von Ascension im Tropengebiet gelegene »Kältezunge« der Planktonexpedition, die durch grossen Reichtum an Diatomeen und anderen Planktonorganismen ausgezeichnet ist. Ueberhaupt am reichsten an Plankton war während der Planktonexpedition die Irmingersee, südwestlich von Island. Andrerseits erwiesen sich der Floridastrom und die Sargassosee als besonders arm an Plankton. Ferner haben die Planktonstudien ergeben, dass in der Kieler Bucht, überhaupt in Ost- und Nordsee, im Verlaufe des Jahres starke Aenderungen in der Zusammensetzung des Planktons stattfinden, und zwar sowohl in qualitativer wie in quantitativer Hinsicht. Vor allem zeigen die Diatomeen eine sehr auffallende Periodizität ihres Auftretens. Sie finden sich in sehr grosser Quantität im Frühjahr (März, April) und in geringerer Menge auch im Herbst (September, Oktober). In den übrigen Monaten dominieren im allgemeinen andere Schwebalgen: Peridineen, Euflagellaten und Schizophyceen.

Die Ursachen für die zeitlichen und örtlichen Verschiedenheiten im Planktongehalt, überhaupt für Reichtum oder Armut eines Wassergebietes, haben wir in den günstigen oder ungünstigen Wachstumsfaktoren der Planktonalgen gesucht.

Die einzelligen Algen, die in den obersten (euphotischen) Schichten des Meeres schweben, bilden die »Urnahrung« für die Tiere, denn bekanntlich sind nur die Pflanzen vermöge ihres Chlorophylls imstande, bei genügender Belichtung aus CO_2, H_2O und verschiedenen Salzen organische Stoffe zu bilden. Die Tiere als chlorophyllose Lebewesen müssen sich direkt oder indirekt von den Pflanzen ernähren. Je mehr organische Sub-

stanz die einzelligen Algen in der Zeiteinheit bilden, je rascher sie wachsen und durch Zweiteilung sich vermehren, desto mehr Tiere können sich von ihnen ernähren.

Als Ernährungs- oder Wachstumsfaktoren, von denen die Wachstums- und Vermehrungsgeschwindigkeit unmittelbar abhängt, kommen für das marine Phytoplankton nur inbetracht Licht, Wärme und das Meerwasser als natürliche Pflanzennährlösung. Alle einzelnen anorganischen Nährstoffe müssen gelöst und in aufnehmbarem Zustande im Meerwasser vorhanden sein. Sämtliche Wachstumsfaktoren, die physikalischen wie die chemischen, haben für jede Art von Planktonalgen ein bestimmtes Optimum. Liegt ein Ernährungsfaktor über dem Optimum, so kann die Alge geschädigt werden. Bekanntlich wirkt z. B. zu reichliche Belichtung oder ein zu hoher Wärmegrad nachteilig; ebenso mag ein Uebermass dieses oder jenes Nährstoffes die Alge schädigen. Sind Licht, Temperatur und alle einzelnen Nährstoffe optimal für die betreffende Art, und sind giftig wirkende Substanzen nicht zugegen, so gedeiht sie am besten, ihre Wachstums- und Vermehrungsgeschwindigkeit ist so gross, wie sie werden kann. Sie wird verlangsamt, wenn eine oder die andere Ernährungsbedingung beträchtlich unter dem Optimum liegt, und zwar um so mehr, je weiter der betreffende Faktor vom Optimum entfernt ist. Das Gesetz vom Minimum ist unter Heranziehung von Mitscherlichs Wirkungsgesetz der Wachstumsfaktoren (15) auf die einzelligen Planktonalgen des Meeres in etwa folgender Fassung anzuwenden: Jeder Wachstumsfaktor wirkt nach Massgabe seiner Menge und seines spezifischen Wirkungswertes. Je weiter ein Nährstoff oder Licht oder Temperatur von dem optimalen Bedarf der betreffenden Alge entfernt ist, desto langsamer wächst und vermehrt sich die Alge in der Zeiteinheit. Sind mehrere Wachstumsfaktoren gleichzeitig weit vom Optimum entfernt, so ist der Grad der Verlangsamung des Wachstums gleich dem Produkt des Verlangsamungsbetrages, den jeder einzelne Minimumfaktor ausübt. Fehlt auch nur ein einziger unentbehrlicher Nährstoff vollständig in den euphotischen Schichten eines Meeresgebietes, so hört dort jedes Algenwachstum auf.

Die äusseren Produktionsbedingungen des marinen Phytoplanktons sind sehr viel einfacher als die der Landpflanzen. Um sich darüber klar zu werden, durch welche Produktionsbedingungen die Bildung von organischer Substanz seitens der Planktonalgen gefördert oder gehemmt wird, tut man gut, drei Gruppen von äusseren Faktoren zu unterscheiden, die sämtlich von Wichtigkeit, grossenteils sogar unentbehrlich für das Gedeihen der Planktonalgen sind, aber in verschiedenem Sinne wirken (13, 15):

1) Nur von den bereits angeführten eigentlichen Ernährungsbedingungen oder Wachstumsfaktoren hängt das Wachstum und die Vermehrung der Planktonalgen unmittelbar ab. Gute Ernährungsbedingungen wirken beschleunigend, ungünstige verlangsamend auf die Wachstumsgeschwindigkeit.

2) Selbstverständlich müssen auch normale Lebensbedingungen, die für die einzelnen Arten von Schwebalgen verschieden sind, zur Verfügung stehen. Als solche sind in erster Linie zu bezeichnen: Wasser mit einem bestimmten Gehalt an Seesalzen und an freiem Sauerstoff, einem bestimmten Alkalinitätsgrade und von zuträglicher Temperatur. Von Wichtigkeit ist auch die Abwesenheit von Giften und anderen schädlichen Stoffen. Abgesehen von der Temperatur, die ich deshalb auch schon bei den Er-

nährungsbedingungen angeführt habe, rufen die Lebensbedingungen keine Beschleunigung des Ernährungs- und Wachstumsvorganges hervor, dagegen können sie das Wachstum hemmen oder sogar die Algen schwer schädigen, wenn die Ansprüche der einzelnen Arten nicht voll erfüllt sind.

3) Weder hemmend noch beschleunigend wirken an und für sich auf die Ernährung der Pflanzen die indirekten Produktionsbedingungen ein: Die verschiedenen Wasserbewegungen, die horizontalen und vertikalen Strömungen, die Gezeiten- und die Wellenbewegungen, ferner der Wind, der Wasserbewegungen hervorruft, und die atmosphärischen Niederschläge und alle Süsswasserzuflüsse vom Festlande, die dem Meerwasser neue Nährstoffe zuführen. Sie alle, so wichtig sie für die Ergänzung und Verteilung der Nährstoffe und auch für die Ausbreitung der Planktonorganismen sind, beeinflussen doch an und für sich den Ernährungsvorgang der Planktonalgen garnicht (13).

Als Teilnehmer an der Planktonexpedition und auf Grund mehrjähriger quantitativer Planktonstudien am Eingang der Kieler Förde (1888—93), die ich durch agrikulturchemische Analysen von Planktonfängen ergänzte (8), habe ich 1899 und 1901 folgende Hypothese aufgestellt: Das Gedeihen des Phytoplanktons ist keineswegs allein von der Stärke der Belichtung und dem Wärmegrade, sondern in ebenso hohem Grade von den zur Verfügung stehenden Nährstoffen abhängig. Dem Gesetz vom Minimum zufolge muss die Produktion spärlich werden, wenn auch nur ein einziger der unentbehrlichen Nährstoffe in verhältnismässig sehr geringer Menge vertreten ist. Als Minimumstoffe sah ich in erster Linie Stickstoffverbindungen und Phosphate an. Sie sind neben Kohlendioxyd die allerwichtigsten Pflanzennährstoffe, denn jedes Lebewesen, sei es Tier oder Pflanze, enthält in den Proteinen Stickstoff und in den Nucleoproteiden u. s. w. Phosphorsäure. Ich nahm ferner an, dass auch Kieselsäure für Diatomeen, die davon sehr grosse Mengen benötigen, vielleicht zeitweise im Minimum vertreten sei. Dagegen hielt ich es für unwahrscheinlich, dass Kohlensäure als Minimumfaktor inbetracht käme. Ich bezeichnete es als notwendig, die Phosphate und die verschiedenen Stickstoffverbindungen quantitativ zu bestimmen, und zwar nicht nur in den oberen Wasserschichten, sondern auch im Boden und nahe über demselben. »Wenn auch die Produktion im Meere nicht direkt abhängig ist vom Boden, so liegt doch sicher ein recht erheblicher indirekter Einfluss des Meeresgrundes vor, denn die Nährsalze müssen . . . immer von neuem vom Meeresgrunde aus ergänzt werden« (9 b S. 46).

Von der Vorstellung ausgehend, dass der Kreislauf des Stickstoffs im Meere nicht wesentlich anders sein werde als auf dem Festlande, hielt ich es für selbstverständlich, dass die eiweissartigen Stoffe der abgestorbenen Tiere und Pflanzen, ebenso wie die Ausscheidungen der Bodentiere, am Meeresgrunde durch Bakterien verschiedener Art in Ammoniumkarbonat und durch nitrifizierende Bakterien weiterhin in Nitrit und Nitrat übergeführt werden. Ob Nitrifikation im Meere stattfinde, war unbekannt. Ebensowenig wusste man, ob auch der umgekehrte Prozess, die Reduktion von Nitrat durch denitrifizierende Bakterien vorkommt. Das Endprodukt dieser Reduktion besteht in der Entbindung von freiem Stickstoff, der für den Kreislauf des Stickstoffs zunächst verloren geht. Seit undenklichen Zeiten werden Stickstoffverbindungen, besonders Nitrate, dem Meere vom Festlande und aus der Atmosphäre zugeführt. Der Ozean, der nach Bous-

singaults Ausspruch (1860) ein ungeheures Reservoir von gebundenem Stickstoff ist, müsste längst verjaucht sein, wenn nicht durch denitrifizierende Bakterien aus Nitraten elementarer Stickstoff abgespalten und dadurch das Stickstoffgleichgewicht hergestellt würde. Da erfahrungsgemäss die Lebenstätigkeit der Bakterien durch höhere Temperatur begünstigt wird, so hielt ich es für wahrscheinlich, »dass diese Zerstörung der wichtigsten Pflanzennährsubstanz vorzugsweise in den warmen Meeresteilen stattfindet«, und dass damit die relative Planktonarmut der tropischen und subtropischen Meere zusammenhängt.

Untersuchungen von Baur und mir (7, 9 b), Gran (28), Feitel (22), Gräf (26), Drew (21), Jssatschenko (39) u. a. haben das allgemeine Vorkommen von denitrifizierenden Bakterien im Meerwasser und am Meeresgrunde erwiesen. Auch nitrifizierende Bakterien trafen Baur und ich 1901 in 2 der 4 untersuchten Bodenproben der Kieler Förde an, vermissten sie jedoch in den oberen Wasserschichten (9 b S. 73). Es wird also Salpetersäure am Meeresgrunde gebildet und nicht ausschliesslich von aussen zugeführt, wie später Gran (1904 u. 1912) und Nathansohn (1906 u. 1908) behaupteten, weil es ihnen nicht gelungen war, nitrifizierende Bakterien in norwegischen Fjorden und im Golf von Neapel nachzuweisen. Dass dennoch am Meeresgrunde Ammoniumsalze durch Bakterien nitrifiziert werden, haben Thomsen (1908) und neuerdings Jssatschenko (1914 u. 1926) und Harvey (1926) nachgewiesen. Dagegen haben alle Bemühungen, auch im freien Meerwasser Bakterien aufzufinden, welche Ammoniumsalze nitrifizieren, bisher ein negatives Ergebnis gehabt.

Nathansohn (1906 u. 1908) unterwarf meine Theorie von der ausschlaggebenden Bedeutung der oben angeführten Minimumstoffe einer Kritik und brachte die in der Literatur vorliegenden Angaben über die quantitative Verteilung des Planktons im Meere unter einen anderen allgemeinen Gesichtspunkt. Diesen erblickt er »in der Bedeutung vertikaler Wasserbewegungen für die Ernährung des Phytoplanktons« (47 S. 2). Dagegen ist einzuwenden, dass die Wasserbewegungen an und für sich gar keine Bedeutung für die Ernährung der Planktonalgen haben, sondern nur die Nährstoffe, die sie mit sich führen. Es ist daher nicht richtig, wenn Nathansohn (48 S. 427) sagt, die Spezialfrage, um welche Nährstoffe es sich dabei handelt, berühre das Fundament seiner Theorie im Grunde genommen gar nicht. Die von mir ins Auge gefassten Nährstoffe (Stickstoffverbindungen, Phosphate, Kieselsäure) kämen nach den vorliegenden Untersuchungen nicht als Minimumstoffe in Frage, eher vielleicht Kohlensäure. In einer späteren Arbeit verwirft Nathansohn (49 S. 38) die Anwendung des Gesetzes vom Minimum auf das Meer gänzlich; es gelte nur für den Ackerboden und seine Gültigkeit sei an die Voraussetzung geknüpft, dass der Stoffverbrauch durch die Vegetation nahe an die Erschöpfung eines der im Boden enthaltenen, notwendigen Nährstoffe führt. Aehnlich hat sich auch Pütter 1907 geäussert. Dass diese Ansicht unrichtig sei, habe ich (13 S. 241—249) dargelegt. Während nach Liebigs Gesetz (in seiner ursprünglichen Fassung) das Pflanzenwachstum nur von einem Nährstoffe abhängig sei, bezeichnet Nathansohn (49 S. 61) die Zuwachsgeschwindigkeit der Planktonalgen als »eine Grösse sehr komplizierter Natur, auf die die allerverschiedensten Faktoren einwirken können. Wie sie auf den Zusatz eines Nährstoffes reagiert, hängt in keiner Weise davon ab, ob dieser sich im Minimum befindet

oder nicht, besonders wenn die Nährflüssigkeit vom Zustande der Erschöpfung einer der notwendigsten Substanzen entfernt ist«. Da bei einzelligen Algen, die sich durch immer wiederholte Zweiteilung vermehren, die Stärke des Wachstums sich in der Vermehrungsgeschwindigkeit ausdrückt, diese aber unter normalen Lebensbedingungen lediglich von den oben angeführten Wachstumsfaktoren unmittelbar abhängt, so ist NATHANSOHNS Behauptung unzutreffend. Am Schlusse seiner Abhandlung gibt NATHANSOHN (49 S. 71) folgende Zusammenfassung für die hydrographisch-biologischen Planktonprobleme: »Wir finden überall da intensives Pflanzen- und folglich auch Tierleben an der Oberfläche des Meeres, wo Zufluss von Wassermassen stattfindet, die dem Phytoplankton nicht, oder nicht unmittelbar vorher zur Nahrung gedient haben. Die Wassermassen können ebenso von der Küste herstammen, als auch aus der Tiefe, wo sie dem Lichte entzogen waren, und infolgedessen keine Pflanzensubstanz produzieren konnten. Bewegt sich das Wasser aber einige Zeit an der Oberfläche, so wird es verhältnismässig rasch pflanzenarm, und zwar, wie ausgeführt wurde, weniger durch Erschöpfung der Nährstoffe, als infolge herabgesetzter Produktionsgeschwindigkeit, die der intensiven Zerstörung der Pflanzensubstanz nicht das Gleichgewicht halten kann«. Die beiden Gründe, die NATHANSOHN für die sich einstellende Planktonarmut annimmt und ihrer Bedeutung nach einander gegenüberstellt, stehen aber in kausalem Verhältnis, und zwar ist der von NATHANSOHN für weniger wirkungsvoll angesehene Grund die eigentliche Ursache. Die Herabsetzung der Produktionsgeschwindigkeit ist ja nur die notwendige Folge der Erschöpfung der Nährstoffe, die eintreten muss, wenn bei beständigem Verbrauch nur unvollkommene Ergänzung stattfindet. Ausserdem legt doch auch die befruchtende Wirkung der Auftriebströme Zeugnis dafür ab, dass vorher irgendein für die Ernährung des Phytoplanktons notwendiger Bestandteil in zu geringer Menge (im Minimum) zur Verfügung stand.

Freilich kann unter anormalen Lebensbedingungen, z. B. bei Gegenwart von giftig wirkenden Stoffwechselprodukten oder zu niedrigem pH-Wert, die Vermehrung gehemmt und sogar der Tod von Planktonalgen herbeigeführt werden. Bei einer physikalischen, chemischen, bakteriologischen und biologischen Untersuchung des sehr planktonreichen Stettiner Haffs und des extrem planktonarmen Papenwassers, die beide in unmittelbarem Zusammenhang stehen, zeigte sich (August 1904) wider Erwarten, dass Salpetersäure, Phosphorsäure und Kieselsäure im Papenwasser reichlicher als im Haff vorhanden waren. Die mangelhafte Ausnutzung der Nährstoffe im Papenwasser wird in diesem besonderen Falle entweder dadurch bedingt sein, dass ein andrer unentbehrlicher Nährstoff fast gänzlich fehlte, oder dass in Wasser gelöste »Giftstoffe oder andre Stoffwechselprodukte von Fäulnisbakterien« ein üppiges Gedeihen der Schwebalgen des Papenwassers verhinderten. Die letztere Annahme erschien mir wahrscheinlicher. »Nach den festgestellten Tatsachen scheint in diesem Falle die verschieden starke Produktion damit zusammenzuhängen, dass im Haff und im Papenwasser wegen verschiedener Bodenbeschaffenheit und auch wegen Verschiedenheit des Gehaltes an Magnesia u. s. w. und der alkalischen oder neutralen Reaktion des Wassers selbst verschiedene Arten von Bakterien die für ihr Gedeihen erforderlichen Lebensbedingungen finden« (11 S. 48). NATHANSOHN (1908) wies dann auf die bekannte Tatsache hin, dass die Milch- und Essigsäurebakterien wegen Giftwirkung ihrer eigenen Stoffwechselprodukte zugrunde

gehen, und sprach die Vermutung aus, dass auch die Planktonalgen schädliche Stoffe ausscheiden, die das Wasser verschlechtern. Obwohl manches für diese Annahme geltend zu machen ist, scheinen mir doch die Diatomeen-Kulturen von Atkins und Schreiber dagegen zu sprechen, dass durch Selbstvergiftung die Vermehrung von Diatomeen abgebrochen wird. Die untersuchten Diatomeen-Arten gediehen bis zum vollständigen Verbrauch der Nährstoffe. Auch die von mir im Auszug ausgesprochene Annahme, dass bei üppigem Gedeihen der Diatomeen die starke Zunahme der Alkalinität des Wassers zu einem Abbrechen der Wucherungsperiode führe, ist mit den Ergebnissen der Kulturversuche nicht vereinbar, denn in Atkins' Kulturen von *Nitzschia closterium* stieg der pH-Wert bis 9,4. Eine Schädigung von Algen und Tieren tritt vielmehr nach Atkins' Versuchen dann ein, wenn z. B. wegen mangelnder Photosynthese und Vorhandensein von vielen Lebewesen in relativ geringer Wassermenge der pH-Wert zu niedrig wird. Auch das ist normalerweise in offener See nicht zu erwarten.

II.

Nach Begründung des Kieler Meereslaboratoriums (1902) stellte ich Raben die Aufgabe, geeignete Methoden zur quantitativen Bestimmung der geringen Spuren von Phosphaten und den verschiedenen Stickstoffverbindungen auszuarbeiten.

Die Untersuchung der Wasserproben auf Stickstoffverbindungen muss möglichst bald nach dem Schöpfen in Angriff genommen werden. Ist das nicht möglich, so müssen die Wasserproben vergiftet werden, weil sonst durch die Lebenstätigkeit der Bakterien der Gehalt an den verschiedenen Stickstoffverbindungen stark verändert wird. Das von uns benutzte Quecksilberchlorid ist dazu wenig geeignet, weil es die Nessler-Reaktion stört. Witting (1914) hat später Laugezusatz, Gad-Andresen (1923) Zusatz von Schwefeldioxyd zur Sterilisation der Wasserproben empfohlen.

Das Ammoniak wird unter Zusatz von Magnesiumoxyd zu frischen oder vergifteten Wasserproben (100 ccm) abdestilliert und mit Nesslers Reagenz kolorimetrisch bestimmt. Raben (1904) sowie Ringer und Klingen (1907) haben sich bemüht die Nessler-Reaktion empfindlicher zu machen.

Das Nitrat und Nitrit wird mittels Aluminiumamalgam zu Ammoniak reduziert und als solches abdestilliert und mit »Nessler« bestimmt. War das Wasser mit $HgCl_2$ vergiftet worden, so musste das Quecksilber vor Zufügung des Reduktionsmittels durch Aluminiumblech ausgefällt werden. Das durch Reduktion entstandene Ammoniak wird zusammen mit dem fertig vorhandenen unter Zusatz von Magnesiumoxyd abdestilliert. Wieviel fertig vorhandenes Ammoniak in dem Wasser vorhanden ist, wird gesondert festgestellt. Aus der Differenz beider Bestimmungen ergibt sich der Gehalt an Nitrat (und Nitrit). Nach diesem nicht fehlerfreien Verfahren haben Raben (58—61), Ringer (63), Gebbing (24, 25) und Gräf (26) in grösseren Serien den Nitratgehalt festgestellt. Die Werte, die nach Rabens Methode gewonnen sind, werden untereinander vergleichbar sein, besonders dann, wenn man sie möglichst zu Durchschnittswerten zusammenfasst, um die Ungenauigkeiten, die den Einzelwerten anhaften, auszugleichen.

Ein wichtiges Ergebnis, das schon bald erreicht wurde, bestand in dem Nachweis,

dass Nitrat im Meerwasser vorhanden und in grösseren Tiefen stets reichlicher als in den oberen Schichten vertreten ist, während es nach den Untersuchungen im vorigen Jahrhundert auch in grossen Tiefen fehlen sollte. Natterer, der bei seinen ausgedehnten Untersuchungen im östlichen Mittelmeer und im Roten Meere zwar geringe Mengen von Ammoniak (durchschnittlich 40 mg/cbm N) und grössere Quantitäten von Albuminoidammoniak (im Mittel 103 mg/cbm N) sowie Spuren von Nitrit, aber weder in den verschiedenen Wasserschichten noch im Lotwasser Nitrat hatte nachweisen können, hatte sich der Hypothese von Schlösing (1875) angeschlossen, »dass die Zersetzung der organischen Wesen, welche auf dem Festlande eine Quelle für die Salpetersäurebildung ist, im Meerwasser im Gegenteil zu einer Ammoniakquelle wird«. Nach der Meinung von Schlösing und Natterer, der später auch Gran und Nathansohn beitraten, soll Salpetersäure nicht am Meeresgrunde gebildet, sondern von aussen den obersten Schichten des Meerwassers zugeführt und dort verbraucht werden.

Für Ammoniak und Nitrat ist in Kiel eine sehr grosse Anzahl von Bestimmungen gemacht worden, vor allem von Raben selbst, ausserdem von Gebbing für die Schöpfproben der Deutschen Südpolarexpedition des »Gauss« und von Gräf für diejenigen der Fahrt des »Planet« durch alle drei Ozeane. Ferner hat Ringer (63) nach gründlicher Prüfung der Methoden eine Reihe von Ammoniak- und Nitrat-Bestimmungen in der Zuydersee ausgeführt.

Der durchschnittliche Ammoniakgehalt von frisch untersuchten Wasserproben aus Ost- und Nordsee betrug nach Rabens von 1910—1914 ausgeführten Bestimmungen 38 bezw. 41 mg/cbm N. In den Jahren 1904—1906 waren die Ammoniakwerte Rabens höher (61 bezw. 62 mg/cbm N); ebenso haben Ringer und Klingen auf 4 aufeinander folgenden holländischen Terminfahrten 1906—07 bei Anwendung des Verfahrens von Raben im Mittel 64 mg/cbm Ammoniakstickstoff erhalten (64). Die Verschiedenheit der früher und später festgestellten Werte wird hauptsächlich damit zusammenhängen, dass anfangs mit Quecksilberchlorid vergiftete, später aber frische Wasserproben untersucht worden sind. Das Mittel der vergifteten Wasserproben des »Planet« betrug im Atlantischen Ozean in 0 m 47, in 400 m Tiefe 44 und in 800 m 51 mg/cbm Ammoniak-N.

Der durchschnittliche Nitratgehalt des Oberflächenwassers der Nord- und Ostsee betrug nach Rabens Bestimmungen 120—140 mg/cbm N. In beiden Meeren wurden zwei Hauptmaxima (etwa 200 mg Nitrat-N) beobachtet, das eine im Februar und März, das andere Anfang September. Ausserdem traten noch im Juni und im Dezember schwächere Anreicherungen ein. Am geringsten war der Gehalt im Juli (durchschnittlich 60 mg N); der niedrigste Wert war 30 mg. Auch im August und meist im November ist wenig Nitrat-N im Oberflächenwasser angetroffen, durchschnittlich 80 mg. In der Nordsee ist im Wasser nahe dem Grunde verhältnismässig um so mehr Nitrat konstatiert worden, je tiefer die Station ist. Das wird z. T. damit zusammenhängen, dass in den grösseren Tiefen der Nordsee und des Skagerraks (100—640 m) ein Verbrauch der Nährstoffe durch die Schwebalgen überhaupt nicht inbetracht kommt. Ausserdem aber muss am Boden in stärkerem Masse als im freien Wasser die Umsetzung organischer Substanz in anorganische erfolgen. Wie die Analysen frischer Grundproben aus der Nordsee ergeben, wird im Laufe des Sommers viel Ammoniak und Nitrat im Boden gebildet, aber vorläufig

dort zurückgehalten, so dass im Wasser nahe dem Grunde der Nitratgehalt im Juli sein Minimum erreicht und auch im August noch sehr gering zu sein pflegt. Dann nimmt, etwa von Anfang September an, der Nitratgehalt im Boden stark ab, im Wasser dagegen entsprechend zu. Damit ist der Anstoss zur Herbstwucherung in der Nordsee gegeben (15). Im Tropengebiet der Ozeane (12) wurde ein verhältnismässig geringer Nitratgehalt im Oberflächenwasser (78 mg/cbm N), ein sehr beträchtlicher in den Tiefen von mehreren hundert Metern (Maximum etwa in 800 m Tiefe 538 mg/cbm N) angetroffen (13 S. 329—336). In der Antarktis war in der ganzen Wassersäule bei fast gleichmässiger Temperatur der Nitratgehalt hoch (durchschnittlich 468 mg/cbm N). Von den vier Stickstoffverbindungen zeigten nur die Nitrate grössere Verschiedenheiten nach Ort und Zeit. Deshalb war ich der Meinung, dass hauptsächlich die Nitrate von dem Phytoplankton in Anspruch genommen werden.

Die gesonderte Bestimmung des Nitritgehaltes ist auf verschiedene Weise von Natterer, Raben (1913), Orr (1926), Harvey (1926) u. a. ausgeführt. Am sichersten ist die von Raben und Orr angewandte und auch von Buch (1923) empfohlene Methode von Gries-Ilosvay. Nitrit fehlt im offenen Meere ganz oder ist in geringeren Mengen als 1 mg/cbm N vertreten. Nur ausnahmsweise ist ein höherer Gehalt (bis zu 10 mg/cbm N) angetroffen worden.

Ueber den Gehalt des Meerwassers an Albuminoidammoniak haben Natterer und Raben (61) eine grössere Anzahl von Bestimmungen gemacht. Beide haben das Verfahren von Wanklyn, Chapman und Smith benutzt. Zunächst wird das fertig vorhandene Ammoniak in der üblichen Weise abdestilliert. Alsdann wird im Destillationsrückstand mit Hilfe einer stark alkalischen Permanganatlösung aus gelösten organischen Stickstoffverbindungen Ammoniak abgespalten. Dieses wird überdestilliert und mit Nesslers Reagenz quantitativ bestimmt. Der durchschnittliche Gehalt beträgt nach Natterers und Rabens Befunden 100—120 mg/cbm N. Nur ausnahmsweise sind sehr niedrige (20—30 mg) oder unter besonderen Umständen sehr hohe Werte (bis mehr als 400 mg/cbm N) angetroffen (16 S. 248—269).

Um für die Phosphatbestimmung wägbare Mengen zu erhalten, verwandte Raben (62) jedesmal 10 Liter filtriertes Meerwasser, die in Korbflaschen aufbewahrt wurden. Zur Sterilisation benutzte er anfangs Salzsäure, später Chloroform. Die Phosphorsäure wurde durch Zusatz von Ferrichlorid und Salzsäure an Eisen gebunden und das Wasser eingedampft, bis annähernd 2 Liter übrig blieben. Unter Zusatz von Ammoniaklösung wird dann das Ferriphosphat ausgefällt. Nach gründlicher Reinigung des Niederschlages und Beseitigung der Kieselsäure wurde die Phosphorsäure nach dem Verfahren von Treadwell mit Ammoniummolybdatlösung ausgefällt, gewaschen und schliesslich durch Wägung und Umrechnung der Gehalt an P_2O_5 ermittelt. Mittels dieses recht umständlichen und zeitraubenden Verfahrens hat Raben eine grössere Anzahl von Bestimmungen des Phosphatgehaltes im Oberflächen- und Tiefenwasser der offenen Nord- und Ostsee, dem Barentsmeer und dem nordatlantischen Golfstrom ausgeführt, die ich näher bearbeitet habe (13, 14, 15). Ich habe noch 1925 in einer Veröffentlichung (15) die nach diesem Verfahren gewonnenen Werte als »genau und einwandfrei« bezeichnet und war sehr überrascht, als ich im August 1926 aus Atkins' vorzüglicher Zusammen-

fassung der englischen Forschungen über chemische Faktoren, die das Pflanzenwachstum beeinflussen (6), ersah, dass Matthews schon 1916 und er selbst 1923, 1924 und 1925 mittels ganz anderer Verfahren zu sehr viel geringeren Werten gelangt waren.

Rabens Werte für das Oberflächenwasser liegen in der Nordsee zwischen 51 und 221, in der Ostsee zwischen 83 und 180 mg/cbm. Das Wasser nahe dem Boden enthält mehr Phosphat als das Oberflächenwasser. Nur Anfang März 1909 war an 2 Nordseestationen gleichviel P_2O_5 an der Oberfläche und nahe dem Grunde (41 bezw. 75 m) vorhanden. Hier lag Durchmischung des Wassers infolge Temperaturausgleiches vor, denn auch Temperatur und Salzgehalt waren in der ganzen Wassersäule fast vollkommen gleich (13 S. 285—287). In der Nordsee beträgt das Jahresmittel für das Oberflächenwasser 119, für das Tiefenwasser 134 mg. Bei Untersuchung des Phosphatgehaltes in demselben Monat verschiedener Jahre wurden ähnliche Werte erhalten. In beiden Meeren liegt ein sehr ausgesprochenes Hauptminimum im Mai und Juni vor. Ausserdem wurde in der Nordsee ein geringeres Minimum im Oktober, zur Zeit der Herbstwucherung der Diatomeen, angetroffen. Die Ergebnisse passten gut zu den Planktonbefunden. Die Phosphatkurve für die Nordsee verläuft von Mitte Februar bis Anfang September entgegengesetzt der Helligkeits- und der Temperaturkurve, entsprechend dem stärkeren Verbrauch der Nährstoffe durch die Planktonalgen und der spärlicheren Ergänzung vom Boden her (s. 15 Fig. 2 u. 3).

Nach Analysen, die ich 1903 habe ausführen lassen, beträgt das Verhältnis von $N : P_2O_5$ in der Trockensubstanz von Diatomeen (Rhizosolenia) und Ceratien — ähnlich wie bei Landpflanzen — 2,24 bez. 2,58 : 1. Es wird also von den Planktonalgen weniger Phosphorsäure als Stickstoff in Anspruch genommen. Unter der sehr wahrscheinlichen Annahme, dass in der westlichen Ostsee (mittlere Tiefe 20 m) jährlich rund 100 g/qm organische Trockensubstanz von dem Phytoplankton produziert werden, habe ich den jährlichen Verbrauch allein durch die Planktonalgen (ohne die Benthospflanzen) auf 167 mg/cbm N und 72 mg/cbm P_2O_5 geschätzt (15 S. 101). Im Vergleich zu diesen Werten sind die nach Rabens Wasseranalysen berechneten Mittelwerte zu hoch. Der durchschnittliche Gehalt an gelösten Stickstoffverbindungen im Oberflächenwasser der Nord- und Ostsee betrug etwa 290 mg/cbm N (130 mg Nitrat-N, 50 mg Ammoniak-N und 110 mg Albuminoidammoniak-N), der an P_2O_5 rund 130 mg. Dagegen ist die Phosphatmenge (72 mg), die aus dem jährlichen Verbrauch durch das Phytoplankton in der westlichen Ostsee berechnet ist, nur etwa doppelt so gross wie der Wert, den Atkins auf ganz andere Weise an der 70 m tiefen Station E_1 erhalten hat (30 bez. 39 mg P_2O_5). Atkins hat durch Subtraktion der aufeinander folgenden Monatswerte für den durchschnittlichen P_2O_5-Gehalt der Wassersäule eine Jahresbilanz aufgestellt (6). Die nachweisbare Konsumption betrug in den 3 Jahren 29,5—53,8, die Regeneration 24,5—61,7 mg/cbm. Das Mittel der ersteren war 38,9, das der letzteren 39,9 mg/cbm, doch nimmt Atkins den sicher nicht zu hohen Durchschnittswert 30 mg an. Die Station E_1 liegt nahe dem offenen Ozean und enthält im wesentlichen Ozeanwasser. Es ist daher verständlich, dass in der seichten westlichen Ostsee ungefähr doppelt soviel P_2O_5 durch das Phytoplankton jährlich in Anspruch genommen wird. Der Verbrauch, der ausserdem durch die Benthospflanzen stattfindet, ist schwer abzuschätzen. Dafür, dass die jährlich in der Beltsee produzierte

Phytoplankton-Menge bei Bülck mindestens doppelt so gross sein wird wie bei E_1, führe ich nachstehend zwei Beispiele an, in denen ich allerdings nicht die Station E_1, sondern die augenscheinlich planktonreichere Nordsee mit einer bestimmten Stelle der Kieler Bucht vergleiche. In den 4 Terminmonaten 1888—93 haben wir am Eingange zur Kieler Aussenförde (Heulboje bei Bülck) durchschnittlich 47 Millionen Ceratien unter 1 qm Oberfläche angetroffen, bei den 4 deutschen Terminfahrten durch die offene Nordsee 1903—05 aber nur 11,3 Millionen (13 S. 389 f.). Auch die Menge der Copepoden bietet einen Anhalt für die Stärke der Produktion (14 S. 28 f.), vorausgesetzt, dass die Grössenverhältnisse der verschiedenen Arten ähnliche sind. Die nachstehenden Zahlen geben die Monatsmittel pro qm für Copepoden, Nauplien und Copepodeneier an, die einerseits bei der Kieler Heulboje, andrerseits bei dem Feuerschiff Borkumriff festgestellt sind.

	Heulboje 1888—93	Borkumriff 1910
Copepoden (incl. Copepodite)	509000	222000
Nauplien insgesamt	922000	361000
Copepodeneier —	322000	180000

III.

Nachdem bis 1914 allein Rabens Methoden angewandt waren, traten dann für Ammoniak, Nitrat und Phosphat andre Verfahren an ihre Stelle.

Witting (72) und Buch (17—19) vermieden bei der Ammoniakbestimmung das Ueberdestillieren. Statt dessen fällten sie vor Zusatz des Nessler-Reagenzes die diese Reaktion störenden SO_4-, Mg- und Ca-Ionen des Meerwassers aus. Zur exakten Messung der Farbe bei der Nessler-Reaktion benutzten sie das Spektralphotometer. Um die geringen Spuren von Ammoniak im Meerwasser mit Sicherheit zu erfassen, fügten sie eine bestimmte Menge von NH_4Cl hinzu. Buch hält es auf Grund seiner eingehenden Untersuchungen für ziemlich sicher gestellt, dass der normale Ammoniakgehalt offener Meere ungefähr zwischen 10 und 50 mg/cbm N liegt (18 S. 12). Zur Reduktion des Nitrates empfiehlt er anstelle des Aluminiumamalgams nitritfrei gemachte Devarda-Legierung. Das entstandene Ammoniak wird durch Kochen mit Mg O überdestilliert und mit Nesslers Reagenz spektralphotometrisch bestimmt (19 S. 14).

Gad-Andresen (1923) verwirft die Nessler-Reaktion ganz und empfiehlt zur quantitativen Feststellung von Ammoniak, Nitrat und Albuminoidammoniak die gasanalytische Stickstoffbestimmung.

Matthews (1916 u. 1917) hat die Phosphatbestimmung auf verschiedene Weise ausgeführt. Am geeignetsten erwies sich Ausfällung der Phosphorsäure mittels eines Eisensalzes und nachfolgende kolorimetrische Bestimmung nach Pouget und Chouchak (Nitromolybdate of strychnine). Der Phosphorsäuregehalt im Meerwasser bei Plymouth betrug von September 1915 bis September 1916 durchschnittlich 30 mg/cbm P_2O_5. Der höchste Wert (64 mg) wurde Ende April und Ende Mai 1916 angetroffen. Vom 8. März bis 19. Oktober 1916 lagen alle Werte unter 24 mg. Die Anwendung eines gravimetrischen Verfahrens, das ähnlich dem von Raben war, hatte zu höheren Werten geführt. Sieben

Proben aus dem Plymouth-Sund (April bis September 1915) enthielten 49—100 mg, durchschnittlich 75 mg/cbm P_2O_5. Die Ursache dafür hat Matthews (45) darin gefunden, dass auch die reinsten Chemikalien von Merck und Kahlbaum Spuren von Phosphaten enthielten. Möglicherweise ist dies auch der Grund für die zu hohen Werte Rabens. Jedenfalls besteht bei diesem gravimetrischen Verfahren eine bedenkliche Fehlerquelle darin, dass zur Verarbeitung von 10 Lit. Meerwasser grössere Mengen von Reagentien, die möglicherweise nicht vollkommen frei von Phosphorsäure sind, verwandt werden müssen.

Atkins (1923) benutzte zur quantitativen Bestimmung von Phosphorsäure eine von Denigès angegebene und von Florentin verbesserte, kolorimetrische Methode. Zu 100 ccm Meerwasser werden 2 ccm von Lösung A (Ammoniummolybdat und Schwefelsäure) und 5 Tropfen von Lösung B (Zinnchlorür mit einer sehr geringen Menge von Kupfersulfat) zugesetzt (3 S. 144 ff.). Bei Anwesenheit von Phosphat entsteht eine blaue Farbe, deren Intensität verglichen wird mit einer Phosphatlösung von gewöhnlich 50 mg/cbm P_2O_5 in destilliertem Wasser. Die Aufbewahrung der Wasserproben muss in grünen Flaschen geschehen. Farbloses Glas ist phosphathaltig, es gibt an destilliertes Wasser Phosphate ab. Atkins legt auch Wert darauf, dass die Untersuchung möglichst bald geschieht, weil sonst Phosphate regeneriert werden. Um das zu verhindern, hatte Raben das Meerwasser filtriert und mit Salzsäure, in späteren Jahren mit Chloroform sterilisiert. Matthews hatte Toluol zur Sterilisation verwandt. Atkins scheint das Wasser weder filtriert noch sterilisiert zu haben, obwohl der grösste Teil der ozeanischen Proben erst nach Wochen oder Monaten untersucht werden konnte. Das von Atkins angewandte Verfahren besitzt in den meisten Fällen eine Genauigkeit bis zu $\pm$ 1 mg/cbm und macht es möglich, auch äusserst geringe Spuren von Phosphat quantitativ zu bestimmen. Ein sehr grosser Vorteil der Methode besteht darin, dass die Bestimmung nur ganz kurze Zeit erfordert. Während Raben zur gravimetrischen Phosphatbestimmung mehrere Tage und Matthews für jede Doppelbestimmung nach Pouget und Chouchak mehrere Stunden brauchte, erledigt Atkins die kolorimetrische in 10 Minuten.

Atkins hat unter anderem im Englischen Kanal an der Station E_1 1923—1926 allmonatlich in verschiedenen Tiefen den Phosphatgehalt nach seinem Verfahren bestimmt. Das Jahresmittel beträgt für das Oberflächenwasser 15—16 mg/cbm, für das Bodenwasser (Tiefe 70 m) 21—22 mg P_2O_5. Sämtliche Einzelwerte sind geringer als 40 mg. In den 5 Monaten Mai bis September lagen in allen vier Jahren die Werte für das Oberflächenwasser zwischen 0 und 10 mg; sie betrugen durchschnittlich 3—4 mg. Auch im Bodenwasser lagen in diesen Monaten alle Einzelwerte unter dem Jahresmittel; ihr Durchschnitt war 15 mg P_2O_5. In seinen 3 Abhandlungen (3—5) macht Atkins noch zahlreiche Angaben über den Phosphatgehalt an anderen Stellen als E_1, z. B. von E_2 und E_3 und L_{1-6} (zwischen Plymouth u. E_1), ferner aus der Nordsee, von Nordschottland, dem Färoer-Kanal, aus allen 3 Ozeanen, dem Mittelmeer u. s. w. Es handelt sich dabei grossenteils um Oberflächenproben. Die Werte waren in den höher temperierten Meeren ähnlich gering wie im Sommer bei E_1. An manchen Stellen sind auch Schöpfproben aus verschiedenen Tiefen entnommen und bald nachher untersucht worden. Am wichtigsten ist eine Serie, die im Oktober 1925 im offenen Atlantik westlich von Lissabon (37° 44′ N, 13° 21′ W) gewonnen

ist. In den oberen 50 m vermisste Atkins Phosphate gänzlich, in 75 m fand er 5 mg/cbm, in 100 m 8, in 200 m 22 mg/cbm P_2O_5 usw. (s. u.).

Nach Atkins' Methode haben 1926 auch Marshall und Orr (44) allwöchentlich planmässige Untersuchungen an 2 Stationen (Clapochlar und Head) im Loch Strivan (Clyde-Seegebiet) ausgeführt. Die in dieser schmalen Meeresbucht erhaltenen Werte sind begreiflicherweise im allgemeinen höher als die von Atkins bei E_1 erhaltenen. In den 23 Wochen vom 7. April bis 7. September betrug an der Station Clapochlar der Phosphatgehalt im Oberflächenwasser 0—23 mg, vom 12. Oktober bis 2. April aber 36—57 mg/cbm P_2O_5. Im Wasser nahe dem Boden (ca. 60 m) lagen die Werte zwischen 34 und 90 mg P_2O_5, während bei E_1 am Grunde (70 m) 5—40 mg vertreten waren. Die nachfolgenden Zahlen zeigen die bedeutenden Unterschiede in der Grössenordnung der Werte, die nach Rabens und Atkins' Verfahren gewonnen sind.

mg/cbm P_2O_5	E_1	Clapochlar	Nordsee
Jahresmittel 0 m	15,2	28	119
Jahresmittel nahe dem Boden	22	55	134

Das Jahresmittel von Rabens Werten, die an verschiedenen Stellen der Nordsee und in verschiedenen Jahren (1904—1914) gewonnen sind, ist für das Bodenwasser 6,2 mal, für das Oberflächenwasser 7 mal höher als die von Atkins im Durchschnitt von 4 Jahren bei E_1, und 2,5 bezw. 4,2 mal höher als die von Marshall und Orr bei Clapochlar im Clyde-Seegebiet bei wöchentlichen Untersuchungen während eines Jahres (1926) festgestellten Werte.

Trotz der erheblichen Verschiedenheit der absoluten Phosphatwerte stimmen die daraus abgeleiteten Schlussfolgerungen, die den relativen Gehalt betreffen, in wesentlichen Zügen überein. Ebenso wie in Nord- und Ostsee, enthielt bei E_1 und Clapochlar das Wasser nahe dem Boden mehr Phosphate als das Oberflächenwasser. An den englischen Stationen ist diese Differenz in den Sommermonaten am grössten, in der kühlen Jahreszeit aber — infolge der Konvektion — nur gering. Bei E_1 und bei Clapochlar liegt das Phosphat-Minimum in Sommer sehr viel tiefer und hält länger an, als es nach Rabens Bestimmungen in Nord- und Ostsee der Fall ist.

Den von Atkins aus seinen Untersuchungen gezogenen Schluss, ein unentbehrlicher Nährstoff werde erst dann zu einem begrenzenden Faktor für die Entwicklung des Phytoplanktons, wenn er vollkommen aufgebraucht ist, halte ich für irrtümlich. Es ist zuzugeben, dass Atkins sehr niedrige Phosphatwerte weit besser als die viel höheren von Raben den ausserordentlich weitgehenden Verbrauch der Phosphorsäure durch das Phytoplankton zeigen. Aber ein Nährstoff braucht nicht vollständig aufgebraucht zu sein, um zum »begrenzenden Faktor« für das Phytoplankton zu werden. Es genügt, wenn die Konzentration eines unentbehrlichen Nährstoffes so gering wird, dass ein schnelleres Wachsen und Vermehren der Algen nicht möglich ist. Hätte z. B. an der einzigen genauer untersuchten atlantischen Station (westlich von Portugal) Phosphat in der euphotischen Wassermasse von 50 m Höhe wirklich vollkommen gefehlt, so wäre jedes Wachsen und Vermehren der Algen in derselben unmöglich gewesen. Wie Atkins selbst aber an verschiedenen Stellen seiner Abhandlungen mit Recht betont, muss in den oberen Was-

serschichten neben dem Phosphatverbrauch seitens des Phytoplanktons fortwährend auch eine Ergänzung dieses unentbehrlichen Nährstoffes durch phosphathaltige Ausscheidungen des Zooplanktons stattfinden. Diese Phosphatmengen werden nicht nachweisbar sein, weil sie alsbald von den Algen in Anspruch genommen werden. Die gleichzeitig angegebenen pH-Werte (0-50 m 8,35 usw.) weisen auch auf eine lebhafte Assimilationstätigkeit des Phytoplanktons hin, die nur dann zu einer Vermehrung der Algen führen kann, wenn genügende Mengen von Phosphaten zur Verfügung stehen.

War bis 1925 seit Raben das Nitrat durch naszierenden Wasserstoff zu Ammoniak reduziert und dann als solches bestimmt worden, so wies Harvey (1926) nun das Nitrat direkt nach. Das kolorimetrische Verfahren, dessen er sich dazu bediente, rührt ebenfalls von Denigès (Journ. Chem. Soc. 1911 S. 655) her. Es besteht in der Bildung einer roten Farbe bei Zusatz einer Lösung von reduziertem Strychnin und Schwefelsäure. Diese Methode der direkten Nitratbestimmung ist schnell auszuführen und ist am genauesten bei fast nitratfreiem Wasser.

Wie Atkins für P_2O_5, ist auch Harvey für N_2O_5 an der Station E_1 zu weit geringeren Werten gelangt als Raben z. B. in Nord- und Ostsee, sowie Gräf und Gebbing im offenen Ozean. Bei E_1 beträgt das Monatsmittel im zweijährigen Durchschnitt 33 mg Nitratstickstoff, während es nach Rabens Bestimmungen in Nord- und Ostsee fast viermal so hoch ist. Besonders bemerkenswert ist der sehr weitgehende Verbrauch in der warmen Jahreszeit. Von Mai bis September hat Harvey nur 0-10 mg Nitratstickstoff in den oberen Schichten bei E_1 angetroffen. Auch Ringer (1905—06) hat, obwohl er genau nach Rabens Vorschrift die Stickstoffbestimmung ausführte, mit Oberflächenwasser der Zuydersee in Sommermonaten ähnlich geringe Nitratmengen erhalten, wie 20 Jahre später Harvey bei E_1 (s. 16 S. 283—286). Dafür, dass von Raben, Gebbing und Gräf bei ihren Nitratbestimmungen im Kieler Meereslaboratorium die niedrigen Werte nicht erfasst sind, gibt Harvey (37 S. 43) nach kurzer Angabe der Methode Rabens folgende Erklärung: »This (the method of Raben) led to results giving too high a concentration owing probably to the formation of ammonia from nitrogenous organic matter dissolved in the sea water. The formation of ammonia from impurities in the reagents and from nitrogen occluded in the amalgam necessitates the subtraction of a large "blank value" from the sea waters, but this correction does not allow for any ammonia formed from organic nitrogen compounds in solution«. Harvey hat auch zahlreiche Wasserproben aus anderen Meeresgebieten als dem Englischen Kanal untersucht, z. B. mit Quecksilberchlorid vergiftete Proben von der schon erwähnten Untersuchungsstelle im Atlantik (37° 44′ N. 13° 21′ W). Einige der angegebenen Werte teile ich nachstehend mit:

m	0	50	100	200	500	2000
mg/cbm N.....	15,11	ca. 6	55	100	200	ca. 265

Nach dem Verfahren von Moberg, das im wesentlichen dem von Denigès entspricht, hat Wattenberg während der »Meteor«-Expedition (1925—1927) sehr ausgedehnte Untersuchungen über den Phosphatgehalt im Südatlantik gemacht. Es liegt bisher nur eine kurze vorläufige Mitteilung im dritten Bericht (1927) vor. Zwei Kurven stellen die Verteilung des Phosphates im Tropengebiet und in ca. 50° Süd dar. Sie zeigen,

dass die wesentlichen Unterschiede sich auf die allerobersten Schichten beschränken, dass darunter aber relativ gleichmässig hohe Werte vorhanden sind. »Die plötzliche Zunahme mit der Tiefe in den Tropen fällt im allgemeinen zusammen mit der sprunghaften Abnahme der Temperatur, also mit der Sprungschicht, über der sich das leichte warme Wasser befindet. Das Vorhandensein dieser die Konvektion verhindernden Deckschicht dürfte die Ursache für das Fehlen der Phosphorsäure in den Oberschichten sein, da die durch die Organismen aufgenommenen Phosphate nach dem Absterben des Planktons zum grossen Teil mit in die Tiefe genommen werden und dieses Defizit nicht durch Konvektion aus dem phosphatischen Tiefenwasser ersetzt wird. Im Gegensatz dazu wird durch die starke Konvektion in den höheren Breiten eine Verarmung der Oberschichten infolge des Planktonstoffwechsels verhindert. Den Transport der Phosphorsäure aus der Tiefe an die Oberfläche beobachtet man auch in grossartiger Weise an der westafrikanischen Küste, wo aufsteigendes Tiefenwasser den Phosphatgehalt bis in die Oberfläche enorm erhöht, während er weiter südlich oder westlich ausserhalb dieser Zone unterhalb der Nachweisbarkeit liegt. Hier treten auch deutlich die Zusammenhänge mit der Verteilung des Planktons hervor, das in diesem Gebiet sehr starke Entwicklung zeigt«.

Wattenbergs Kurven sind in sehr kleinem Masstabe wiedergegeben, sodass die Werte für die verschiedenen Tiefen nicht genau daraus abzulesen sind. Daher werden die Zahlen (mg/cbm P_2O_5), die ich zum Vergleich mit den von Atkins für 37° 44′ N. angegebenen zusammenstelle, nur annähernd richtig sein.

m	0	50	100	150	200	300	500	1000	2000
Atkins 37° 44′ N.	0	0	8	10	22	44	50	74	78
Wattenberg Tropen	0	35	65	92	105	127	150	140	100
— ca. 50° S	90	..	..	100	100	..	110	112	100

Dass Atkins in der von ihm untersuchten Wassersäule des subtropischen Nordatlantik weit weniger Phosphat angetroffen hat als Wattenberg im tropischen Atlantik, wird an der zum Aequator asymmetrischen Tiefenzirkulation im Atlantischen Ozean liegen, die Wüst und Defant in neuester Zeit zusammenfassend dargestellt haben. Während der Südatlantik in grossen Tiefen in weit offener Verbindung mit der Antarktis steht, ist der Nordatlantik gegen das nordpolare Becken durch hohe Schwellen grösstenteils abgeriegelt. Im Südatlantik dringen zwei mächtige Tiefenströme von salzarmem Wasser der Antarktis aequatorwärts vor: der kalte Bodenstrom, der in der westlichen Tiefenmulde bis zum Aequator, in der östlichen Mulde nur bis zum Walfischrücken zu verfolgen ist, und der relativ kühle »antarktische Zwischenstrom«, der in der ganzen Breite des Südatlantischen Ozeans von 50° S. Br. in einer Tiefe von 800 bis 1000 m und in einer Mächtigkeit von rund 600 m nach dem Aequator vordringt. Er ist bis etwa 15° N. Br. zu erkennen (75 T. 33). Die beiden Wassermassen antarktischer Herkunft werden durch den salzreicheren und wärmeren Tiefenstrom, der bis etwa zum 40° S. Br. sich erstreckt, getrennt. Diese nach Süden vordringende Wassermasse hat eine Mächtigkeit von fast 2000 m; ihr Kerngebiet liegt in 2500 m Tiefe. In Wattenbergs Kurve für das Tropengebiet sind die höchsten Phosphatwerte (150 mg) in 400—870 m Tiefe, also im antarktischen Zwischenstrom, angetroffen. Darunter nimmt der Phosphatgehalt wieder ab. Zu

ähnlichen Ergebnissen haben die Nitrat-Bestimmungen der Schöpfproben vom »Gauss« und »Planet« im tropischen Atlantik geführt (12 S. 35, 13 S. 329). Im Gegensatz zum Südatlantik sind im Nordatlantik die beiden arktischen Ströme nur sehr schwach entwickelt. Der arktische Zwischenstrom ist nur im Westen vertreten und hier von der Baffinsbay bis höchstens zum 45° N. Br. bemerkbar. Im Nordatlantik reicht daher zwischen 25° und 40° N. Br. das warme salzreiche Wasser der oberen Schichten, vermehrt durch Zufluss vom Mittelmeer, bis in grössere Tiefen hinab. Die im subtropischen Gebiet des Nordatlantik ausgeführte Untersuchung von Atkins musste wegen Fehlens eines arktischen Zwischenstromes zu erheblich geringeren Phosphatwerten führen.

Mit persistierenden Kulturen von marinen Diatomeen haben Allen und Nelson (1910) und später Atkins (1923) wichtige Versuche über die Lebens- und Ernährungsansprüche dieser Planktonalgen angestellt. Atkins hat z. B. festgestellt, dass zur Produktion von einer Million *Nitzschia closterium* die Nährlösung 1,12 mg P_2O_5 enthalten muss. Schreiber (1927) hat die Methodik der Reinkultur weiter entwickelt und nicht nur den Einfluss von Licht und Temperatur auf Carteria und gewisse Diatomeen, sondern auch den Bedarf dieser Arten an gebundenem Stickstoff und Phosphorsäure festgestellt. Ihm ist auch der wichtige Nachweis zu verdanken, dass Carteria in bakterienfreier Reinkultur alle 4 Stickstoffverbindungen genau ihrem N-Gehalte entsprechend verbraucht. Dass marine Plankton-Diatomeen Ammoniumsalze ebensogut wie Nitrate assimilieren, hatten Gaarder und Gran schon durch Kulturversuche bewiesen. Schreiber ist weiterhin dazu übergegangen, mit Hilfe von bakterienfreien Carteria-Kulturen und ohne jede chemische Analyse den Phosphatgehalt und den Gesamtgehalt an Stickstoffverbindungen im Oberflächenwasser bei Helgoland zu ermitteln. Mit Hilfe dieser neuen physiologischen Methode gelangte Schreiber zu sehr hohen Phosphatwerten (113 mg im Jahresmittel), die den vermutlich fehlerhaften von Raben (119 mg) sehr ähnlich sind. Andrerseits waren die Werte für die gesamten Stickstoffverbindungen (durchschnittlich 126 mg N) ziemlich niedrig. Beide Kurven zeigen einen sehr ähnlichen Verlauf. Die Phosphat- und Stickstoff-Werte sind von Anfang Juli bis Ende Januar hoch (125—210 mg P_2O_5 bez. 132—200 mg N). Beide Kurven fallen nach Ende Februar stark ab (40 mg P_2O_5 und 50 mg N) und erheben sich Mitte März wieder auf 72 bez. 140 mg, um dann bis Mitte Juni auf den tiefsten Punkt (etwa 3 mg P_2O_5 und 8 mg N) hinabzusinken.

IV.

In den letzten Jahren sind gewaltige Fortschritte auf diesem Forschungsgebiete eingetreten. In erster Linie ist das den neuen Methoden, die Atkins und Harvey eingeführt haben, zu verdanken. Sie machen es möglich, in kurzer Zeit Serien von Wasserproben zu untersuchen. Es kommt aber hinzu, dass ergänzende Untersuchungen über den Sauerstoffgehalt, den Alkalinitätsgrad und den Gehalt an Nannoplankton sich als sehr fruchtbringend erwiesen haben.

An die Stelle der Durchzählung von Vertikalfängen mit dem quantitativen Planktonnetz ist zur Feststellung der horizontalen und vertikalen Verteilung der Planktonalgen die von Lohmann, Gran u. a. ausgebildete Methode getreten. In Schöpfproben aus

verschiedenen Tiefen wird — nach Zentrifugieren einer kleinen Portion der frischen oder konservierten Wasserprobe — die Menge und Art der kleinen einzelligen Organismen festgestellt. Man ist dann in der Lage, den Gehalt an Phytoplankton mit den für dieselben Schöpfproben ermittelten physikalischen und chemischen Tatsachen zu vergleichen. Will man aber erfahren, in welchen Mengen die vielzelligen Tiere zu gegebener Zeit an der Untersuchungsstelle vertreten sind, so bleiben nach wie vor Vertikalzüge eines quantitativ fangenden Netzes mit Schliesseinrichtung das beste Mittel.

Bei den internationalen Untersuchungen ist von Seiten der Hydrographen besonderer Wert auf die Messung des Sauerstoffgehaltes und später auch auf die Feststellung der Wasserstoffionen-Konzentration gelegt worden. Die ausgedehnte Anwendung der für beide Bestimmungen vorhandenen zuverlässigen Methoden hat zu Ergebnissen geführt, die für die hydrographische Forschung von grossem Wert und auch für die Meeresbiologie von nicht geringer Bedeutung sind. Dadurch, dass die Algen während der Photosynthese die Bikarbonat-Kohlensäure aus dem umgebenden Wasser aufnehmen und zur Bildung von Kohlenstoffverbindungen verwenden, wird bei reichlichem Vorhandensein von assimilierenden Algen das Wasser stärker alkalisch. Diese Steigerung des pH-Wertes ist eine notwendige Folge des Assimilationsvorganges, ebenso wie die Sauerstoffausscheidung. Neben dem photosynthetischen Ernährungsprozess der Algen findet beständig der Atemprozess der Tiere, Bakterien und Algen statt, bei welchem — umgekehrt — Sauerstoff aufgenommen und Kohlendioxyd abgeschieden wird. Der Wert, den man bei Bestimmung des Sauerstoffgehaltes und der Wasserstoffionen-Konzentration erhält, repräsentiert die Differenz der beiden, in entgegengesetztem Sinne verlaufenden Lebensvorgänge. Für das Oberflächenwasser kommt noch der Gasaustausch mit der Atmosphäre hinzu. In der hellen und wärmeren Jahreszeit überwiegt die Assimilation, im Winter die Respiration bez. Dissimilation.

Aus den Untersuchungen von Atkins (1922), Palitzsch (1923) u. a. geht hervor, dass der pH-Wert im offenen Meere nur wenig verschieden ist. Im Englischen Kanal steigt er in der hellen Jahreszeit auf 8,3 und sinkt im Winter auf 8,1. In Meeresbuchten sind die Unterschiede grösser. So lagen im Loch Strivan die pH-Werte zwischen 7,9 und 8,46 in den oberen Wasserschichten, in norwegischen Fjorden zwischen 6,98 und 8,35.

Der Grad der Sauerstoffsättigung und die Höhe des pH-Wertes geben ein Mindestmass ab für die am Untersuchungstage in einer bestimmten Wasserschicht vorliegende Stärke der Kohlenstoffassimilation. Nach beiden Bestimmungen ist auch eine überschlägige Berechnung des Verbrauches von Kohlendioxyd und damit der Quantität der gebildeten Kohlehydrate möglich. Ueber die Beziehungen des Alkalinitätsgrades und des Sauerstoffgehaltes zu den Minimumstoffen und zum Auftreten von Diatomeen-Wucherungen haben Atkins, Gran und Gaarder, Marshall und Orr u. a. wertvolle Untersuchungen angestellt und z. T. durch Experimente ergänzt. Das letztere ist besonders von Atkins und Gran geschehen. Nach den jahreszeitlichen Variationen des pH-Wertes des Meerwassers an den Stationen E_1 und E_2 berechnet Atkins den Jahresertrag der Assimilation des Phytoplanktons zu 3 g/cbm Dextrose (6 S. 203). Gran (32) hat aus der Sauerstoffzunahme im Aussenfjord von Bergen die Produktion zur Zeit der Frühjahrswucherung berechnet. Sie betrug in der ganzen Oberschicht des Küstenstromes bis 10 m

Tiefe 1,4 g Glukose pro Kubikmeter als Minimum für 3 Wochen. Auf Grund seiner gleichzeitigen Kulturversuche gelangt er zu einem mehr als dreimal so hohen Wert (5,2 g Glukose). Er hält es für wahrscheinlich, dass 80 bis 90 % der Assimilationsprodukte in gelöster Form in das Wasser übertreten und schnell von Bakterien oxydiert werden.

Auch von deutscher Seite sind in letzter Zeit schöne Erfolge erzielt. Wattenberg hat die einschlägigen chemischen Untersuchungen auf der »Meteor«-Expedition in sehr ausgedehntem Masse durchgeführt, und Hentschel hat sie durch eingehende Nannoplankton-Studien ergänzt.

V.

Von grosser Bedeutung für die Ergänzung der Nährstoffe und damit für das bessere Gedeihen der Meeresalgen sind die oben bereits angeführten indirekten Produktionsbedingungen, obwohl sie, wie erwähnt, den Ernährungsvorgang der Algen an und für sich garnicht beeinflussen. Sowohl die meteorologischen Einwirkungen (Wind und Temperatur), wie die Wasserbewegungen verschiedener Art üben einen sehr grossen Einfluss auf die Durchlüftung des Meeres und auf die Verteilung der Nährstoffe und der Planktonorganismen aus, doch ist der Einfluss auf die Planktonproduktion nur ein indirekter. Ebenso ist es mit der Nährstoffzufuhr vom Festlande und von der Atmosphäre her.

Eine stärkere Photosynthese ist nur in der euphotischen Zone möglich, die bis etwa 30 oder 80 m Tiefe — je nach der geographischen Lage — sich erstreckt. Auch die darunter liegende spärlich besiedelte Region der Schattenflora reicht nur wenige hundert Meter tief. In der euphotischen Schicht unterliegen während der hellen Tageszeit die Stickstoffverbindungen und Phosphate einem Verbrauch durch das Phytoplankton und in Küstengebieten ausserdem durch die am Boden lebenden Tange, Rotalgen, Seegräser usw. Die Minimumstoffe würden ganz verbraucht werden, wenn nicht Ersatz stattfände. Eine sicherlich nicht unbeträchtliche Ergänzung geschieht beständig durch das Tierleben, das in der euphotischen Schicht am dichtesten ist. Die Ausscheidungen der schwebenden und schwimmenden Tiere (Harn und Kot) düngen fortwährend das Meerwasser mit Phosphaten und Stickstoffverbindungen. Diese Stoffwechselprodukte werden durch Bakterien in assimilierbare Form gebracht oder von Saprozoen, Saprophyten und Algen direkt in Anspruch genommen.

Niedersinkende tote Tiere und Algen des Planktons, sowie abgestorbene Fische usw. werden am Grunde von Bodentieren gefressen oder, zusammen mit den Ausscheidungen der oft sehr zahlreichen Bodentiere und den Ueberresten abgestorbener Tiere und eventuell auch Pflanzen des Bodens, durch Bakterien verschiedener Art in anorganische Form übergeführt. Es werden unter anderem Phosphate und Ammoniumkarbonat gebildet und das letztere nitrifiziert. Diese Umsetzung in Pflanzennährstoffe am Grunde findet während des ganzen Jahres statt, und zwar schon in Tiefen von wenigen hundert Metern wegen gleichmässiger Temperatur beständig in gleichem Masse.

In grösseren Meerestiefen, in denen nur ein schwaches Dämmerlicht oder Dunkelheit herrscht, ist die Bildung von organischer Substanz durch chlorophyllführende Pflanzen unmöglich. Daher sind die Tiere, die dort leben, direkt oder indirekt auf die organischen Substanzen angewiesen, die in den obersten Wasserschichten bei ausrei-

chender Belichtung von den chlorophyllführenden Organismen erzeugt sind. Je mehr tote Tiere aus den euphotischen Regionen hinabsinken, desto dichter ist das Tierleben in der Tiefsee. Die Umsetzung der Reste und der Ausscheidungen von Tieren durch Bakterien kann am Grunde der offenen Ozeane wegen der niedrigen Temperatur nur sehr langsam vor sich gehen. Die mineralisierten Nährstoffe, die von den Tieren nicht verwertet werden können, sind durch Diffusion und Strömungen im Laufe der Jahre allmählich vom Grunde bis in die Nähe der euphotischen Schichten geführt worden. Es ist eine sehr lange Zeit erforderlich, um einen so hohen Phosphatgehalt herbeizuführen, wie Wattenberg ihn für den Südatlantik nachgewiesen hat. In der ganzen Wassermasse von mehr als 3000 m Tiefe bis hinauf zu etwa 200 m Tiefe hat er einen Gehalt von rund 100 mg/cbm P_2O_5 konstatiert. Dieser ungeheure Vorrat kann sich nicht in wenigen Jahren angehäuft haben. Man wird auch annehmen müssen, dass im Durchschnitt von diesem Vorrat im Laufe des Jahres nur ungefähr soviel an die euphotischen Schichten abgegeben wird, wie zu ihm im Laufe des Jahres hinzukommt. Das ist im allgemeinen nur recht wenig. Im Englischen Kanal beläuft sich nach Atkins, wie oben bereits erwähnt, der Jahresumsatz (Verbrauch und Ersatz) in der 70 m hohen Wassermasse bei E_1 auf nur 30 (bez. 39) mg/cbm P_2O_5. Der durchschnittliche Phosphatgehalt an dieser Stelle beträgt etwa 18 mg, also ungefähr halb so viel wie der Jahresumsatz.

Die gelösten Nährsalze am Meeresgrunde, die zum grössten Teile von der Lebensgemeinschaft des Meeresbodens geliefert werden, kommen dem Phytoplankton erst zugute, wenn sie durch Vertikalströmungen den oberen Wasserschichten zugeführt worden sind. Eine sehr eingehende Behandlung der Meeresströmungen, besonders der Vertikalzirkulation und ihrer wahrscheinlichen Bedeutung für die Planktonproduktion im Meere, hat Nathansohn (1906 und 1908) gegeben, zu einer Zeit, als über die Verteilung der Nährstoffe im Ozean fast noch nichts bekannt war.

Von Auftriebströmen kommen vornehmlich die Stauströmungen und die Konvektionsströmungen inbetracht. Bei starkem ablandigen Wind wird an der Küste Oberflächenwasser fortgedrückt und kühleres und, wie wir jetzt wissen, nährstoffreicheres Tiefenwasser emporgesaugt. Dass dies auch an gewissen Stellen sonst warmer Meeresgebiete in Erscheinung tritt und zu einem erstaunlichen Planktonreichtum führt, hat 1890 Puff für die peruanische, marokkanische, die west- und ostafrikanische Küste usw. näher ausgeführt. Natterer hat den Planktonreichtum in der Strasse von Messina mit Auftriebströmen erklärt, und Nathansohn hat diese Angaben ergänzt. Die Wirkung des Windstaues auf die Menge und Zusammensetzung des Planktons macht sich auch in der westlichen Ostsee (14, 15) und in norwegischen Fjorden (31) in sehr auffallendem Masse bemerkbar. Neuerdings haben Atkins und Harvey nachgewiesen, dass auf unterseeischen Rücken oder seichten Bänken in Landnähe durch emporsteigendes Tiefenwasser der Nährstoffgehalt der oberen Wassermassen erhöht wird. Ebenfalls in neuester Zeit hat Wattenberg den Nachweis erbracht, dass der aufsteigende Strom an der westafrikanischen Küste eine bedeutende Erhöhung des Phosphatgehaltes bis zur Oberfläche herbeiführt, und dass diese die starke Planktonentwicklung, die gleichzeitig von Hentschel quantitativ untersucht ist, zur Folge hat.

Der grössere Organismenreichtum der Küsten- und Seichtwassergebiete im Ver-

gleich zur Hochsee wird hauptsächlich durch drei Umstände herbeigeführt. Erstens kommen die Zuflüsse vom Festlande inbetracht. Durch Regenfälle werden Nährstoffe des Landbodens ausgewaschen und ins Meer gespült. Dasselbe geschieht in sehr ausgiebigem Masse zur Zeit der Schneeschmelze, z. B. in der Ostsee. In dem baltischen Strom erblickt Gran die Hauptursache für den Eintritt der Diatomeenwucherung im Frühjahr auch an den Küsten bei Oslo und Bergen. Flüsse schwemmen ausser gelösten Nährstoffen und organischen Detritus auch Süsswasserorganismen ins Meer, die im Salzwasser absterben, verwesen und mineralisiert werden. Von dieser Düngung ist in einiger Entfernung vom Lande nichts mehr zu bemerken, weil sie auf grosse Wassermassen verteilt und z. T. von den Algen, die nahe der Küste leben, in Anspruch genommen wird. Eine einfache Rechnung ergibt jedoch, dass die beständige Anreicherung des Meeres, die auf diese Weise stattfindet, im Laufe der Jahrtausende zu beträchtlichen Mengen anwächst. Zweitens finden sich nur an den Küsten und in seichtem Wasser die Tangwälder und Seegraswiesen, welche zahlreichen Bodentieren Anheftungsgelegenheit und Unterschlupf darbieten und in abgestorbenem und zerstückeltem Zustande auch eine wichtige Nahrungsquelle für viele Bodentiere bilden. Wegen des dichteren Pflanzen- und Tierlebens an den Küsten werden hier mehr Pflanzennährstoffe gebildet als in offener See. Drittens werden die im und am Boden befindlichen, mineralisierten Nährstoffe durch starke Wasserbewegungen verschiedener Art, vor allem durch Stauströmungen und Gezeitenbewegungen, häufiger den oberen Wasserschichten beigemischt, als es in landfernen Meeresteilen der Fall ist. Auch in Zeiten der thermischen Schichtung und in Gebieten mit saliner Schichtung findet diese Anreicherung bei stürmischem Stauwind statt.

Von noch grösserer Bedeutung für die Verteilung der Nährstoffe als die Stauströmungen sind die Konvektionsströmungen. Das ist für die Landseen früher als für das Meer erkannt worden. Whipple (1894, 1895 und 1899) hat für amerikanische Landseen die Frühjahrs- und Herbstwucherung der Diatomeen durch die Vertikalzirkulation erklärt und als erster erkannt, dass dabei nicht nur Diatomeen, sondern auch Stickstoffverbindungen vom Grunde zur Oberfläche gebracht werden. Später ist besonders von Birge und Juday der jahreszeitliche Wechsel zwischen Schichtung und vertikaler Durchmischung des Wassers und ihr Zusammenhang mit dem Nährstoffgehalt und mit qualitativen und quantitativen Aenderungen der Zusammensetzung des Planktons in amerikanischen Seen untersucht worden. Für den Ozean hat Zöppritz 1887 die Grundzüge für die Vertikalzirkulation dargelegt. Natterer hat in mehreren Aufsätzen aus der Verteilung von Nitrit und Bromsalzen auf das Vorhandensein von Auftriebströmen geschlossen. Nathansohn, der die ozeanische Vertikalzirkulation mit den Feststellungen über Reichtum oder Armut an Plankton in Beziehung gebracht hat, ist dabei auch auf die Bedeutung der thermischen Vertikalzirkulation näher eingegangen (48 S. 376– 385). Er kommt dabei »zu dem Ergebnis, dass sie nur lokal, wie z. B. im Irmingermeer, einen entscheidenden Einfluss auf die Produktionsfähigkeit gewinnen kann«. Meist seien die hydrographischen Bedingungen für eine totale Durchmischung bis zum Grunde nicht günstig, während gerade diese für die Heraufbeförderung von Nährstoffen von grösster Wichtigkeit sei. Von grösserer Wirkung sind, wie er näher ausführt, diejenigen Erscheinungen, die in ihrer Gesamtheit das grosse System der ozeanischen Vertikalzirkulation bilden. Gran

(30) nimmt an, dass es bei den aufsteigenden Strömen in erster Linie um Zuführung von Stickstoffverbindungen sich handelt und teilt seine eigenen Erfahrungen mit. Unter Anwendung der genaueren kolorimetrischen Methoden haben Atkins, Harvey, Marshall und Orr u. a. bei regelmässigen Untersuchungen an denselben Stationen und Wattenberg bei planmässiger Untersuchung des südatlantischen Ozeans bewiesen, dass der Wechsel von thermischer Schichtung und Durchmischung im Meere von ebenso grosser Bedeutung für die Planktonproduktion ist, wie es für die Landseen schon bekannt war.

In der gemässigten Zone verhindert im Sommer die thermische Schichtung das Aufsteigen von Nährstoffen aus der Tiefe in die euphotischen Schichten. Die Oberschicht ist so warm und leicht, dass der Wind sie nicht mehr mit den kühlen Unterschichten mischen kann. Je grösser der Unterschied in der Temperatur und damit in der Dichte zwischen der Oberschicht und der Wassermasse darunter ist, desto mehr ist der Ausgleich erschwert. Hat sich aber im Herbst das Wasser der Oberschicht soweit abgekühlt, dass es mit den darunter liegenden Wassermassen nur um wenige Grade verschieden, also nahezu von gleicher Dichte, ist, so bringen die ersten Herbststürme Konvektionsströmungen hervor. Die im Sommer geschichtete Wassermasse wird durchmischt, so dass die in tieferen Schichten angesammelten Nährstoffe nun gleichmässig verteilt werden. Stürme und Gezeitenbewegung unterstützen den Ausgleich. Bald darauf setzt die Herbstwucherung ein. Die Vertikalzirkulation infolge weiterer Abkühlung der oberen Schichten im Winter reicht bis zu der Tiefe hinab, in der das Wasser dieselbe Temperatur besitzt, wie sie an der Oberfläche im Winter erreicht wird. Die Anreicherung der oberen Wasserschichten mit Nährsalzen ist im Frühjahr und im Herbst am stärksten. Die Kurven, die Marshall und Orr für Temperatur und Salzgehalt, den Sauerstoffgehalt, den pH-Wert, den Phosphatgehalt und das Auftreten der Diatomeen in den 5 Schichten ihrer Untersuchungsstelle im Loch Strivan gegeben haben, zeigen in sehr klarer Weise die Bedeutung der Schichtung einerseits und der Durchmischung andrerseits. Während der kühlen Jahreszeit (November—März) ist das Wasser so durchmischt, dass die Wassermasse von 0—60 m fast gleich ist inbezug auf den pH-Wert, den P_2O_5-Gehalt und die Sauerstoffsättigung. Von März oder Anfang April bis Mitte Oktober weichen infolge der thermischen Schichtung des Wassers die Kurven für die verschiedenen Tiefen bei allen 3 Faktoren immer weiter auseinander. Der pH-Wert und der Sauerstoffgehalt nehmen nach der Tiefe hin mehr und mehr ab und der P_2O_5-Gehalt in gleichem Masse zu. Die nach Rabens Methoden in Nord- und Ostsee festgestellten Werte zeigten zwar eine deutliche Abnahme des Phosphat- und Nitratgehaltes im Sommer und ein Aufsteigen von nährstoffreichem Tiefenwasser Anfang September (1912), ausserdem aber auch im Juni (1911) ein starkes Ansteigen des Nitratgehaltes in der Beltsee und ein schwächeres in der Nordsee, so dass die Wichtigkeit des regelmässigen Wechsels von thermischer Schichtung und Durchmischung nicht deutlich hervortrat.

Im antarktischen Gebiet sind die Nährstoffe bei gleichmässiger Temperatur vom Grund bis zur Oberfläche infolge Konvektion annähernd gleichmässig verteilt. Das zeigen die Untersuchungen von Gebbing für Nitrat und von Wattenberg für Phosphat. Trotz üppigen Vegetierens der Diatomeen im Sommer wird der Nährstoffgehalt in den

obersten Schichten nur wenig reduziert, weil durch Konvektion das Verbrauchte bald ersetzt wird.

Im Tropengebiet aber lagert dauernd, jahraus jahrein, eine hochtemperierte und daher leichte Wasserschicht von geringer Mächtigkeit auf der kühleren und dichteren Wassermasse, die sich bis zum Grunde erstreckt. Der Unterschied in der Temperatur zwischen der Deckschicht und der darunter gelegenen Wassermasse ist zu gross, als dass das kühle, nährstoffreiche Wasser bis in die euphotische Schicht aufsteigen könnte. Nach Wattenberg, der die grössten Erfahrungen besitzt, bildet im tropischen Atlantik die Sprungschicht die Grenze. Sie liegt in einer Tiefe von etwa 100 m. Von 200 m bis zum Grunde ist der Phosphatgehalt durchschnittlich ebenso hoch wie in der Antarktis. Die mangelhafte Ergänzung der Nährstoffe aus der Tiefe infolge thermischer Schichtung wird, wie auch Atkins und Harvey ausführen, der Grund sein, weshalb im Tropengebiet trotz günstigster energetischer Ernährungsbedingungen eine gewisse Planktonarmut vorliegt. Diese Erklärung ist so einleuchtend, dass die 1899 von mir aufgestellte Annahme, die denitrifizierenden Bakterien seien die Ursache für die Planktonarmut der Tropenmeere, damit hinfällig wird. Ich bin jedoch nach wie vor der Ansicht, »dass die denitrifizierenden Bakterien im Ozean den Ueberfluss an Stickstoffverbindungen zerstören und dass sie es sind, die das vorhandene Gleichgewicht in der Natur aufrecht erhalten«.

Nur an wenigen Stellen des tropischen Atlantik sind weit von der Küste entfernt emporsteigende Keile nitratreichen Tiefenwassers auf der »Planet«-Expedition nachgewiesen, und zwar am Aequator selbst und ausserdem zwischen 15° und 20° südlicher Breite. Das am Aequator vertikal aufwärts steigende kühle Tiefenwasser wird von den Hydrographen als Ersatz für die polwärts abgeführten Mengen warmen Oberflächenwassers des Tropengebietes aufgefasst (12 u. 13). Die lokale Anreicherung von Nährstoffen in den oberen Wasserschichten des Tropengebietes wird die Ursache sein für den Reichtum an Planktonorganismen, den die Planktonexpedition in der sogenannten Kältezunge des Südäquatorialstromes nachgewiesen hat (13 S. 329—336). Während in der Kältezunge und augenscheinlich auch in der ebenfalls sehr organismenreichen Irmingersee (südwestlich von Island) nährstoffreiches Wasser aus der Tiefe emporsteigt, findet an anderen Stellen auch die entgegengesetzte Vertikalbewegung statt, das Hinabsinken von erwärmtem und ausgepowertem Oberflächenwasser. In besonders ausgeprägtem Masse ist das in der Sargassosee und an manchen Stellen des östlichen Mittelmeeres der Fall.

Es ist jetzt wohl allgemein anerkannt, dass von den chemischen Faktoren die Phosphate und die Stickstoffverbindungen in erster Linie von Wichtigkeit für die Produktion im Meere sind. Daher ist die Erforschung des Kreislaufes der Phosphorsäure und des Stickstoffes im Meere von grosser Bedeutung für die Erkenntnis des Gesamtstoffwechsels im Meere. Zur Zeit ist unser Wissen darüber und insbesondere über den Stickstoffkreislauf noch höchst lückenhaft. Die Grösse des jeweiligen Bestandes der Minimumstoffe ist abhängig einerseits von der Lebenstätigkeit und den Stoffwechselvorgängen von Bakterien, Algen und Tieren, andrerseits von den meteorologischen und hydrographischen Verhältnissen. Das Problem des Stoffumsatzes im Meere ist also von sehr verschiedenen Seiten aus in Angriff zu nehmen. In erster Linie aber handelt es sich darum, so genau wie irgend möglich festzustellen, in welcher Menge die Phosphate, Nitrate, Ni-

trite, Ammoniumsalze und das Albuminoidammoniak unter natürlichen Bedingungen im Meerwasser sich finden und wie sie zeitlich und örtlich in den verschiedenen Schichten sich verteilen. Die quantitative Bestimmung der einzelnen Stickstoffverbindungen und der Phosphate muss mit grosser Genauigkeit und zugleich mit möglichst geringem Zeitaufwande ausführbar sein.

Für die Phosphate scheint mit dem zuerst von Atkins eingeführten kolorimetrischen Denigès-Verfahren ein vorzügliches Mittel gefunden zu sein, um in ähnlich grosszügiger Weise, wie es von Wattenberg geschehen ist, grosse Serien an Bord zu untersuchen. Wie ausserordentlich gering die Spuren von Phosphorsäure sind, zeigen Atkins mehrjährige Untersuchungen an der Station E_1. In der ganzen Wassersäule von 70 m Höhe fand er stets weniger als 4 Gewichtsteile P_2O_5 in 100 Millionen Gewichtsteilen Meerwasser. Eine Prüfung der Genauigkeit dieser kolorimetrischen Methode, die immerhin subjektiv ist, durch objektive Verfahren wäre besonders dann am Platze, wenn nur wenige Milligramm pro Kubikmeter oder gar kein Phosphat nachweisbar sind. Möglicherweise ist dazu das physiologische Verfahren von Schreiber geeignet.

Für die Nitratbestimmung verdanken wir Harvey die Einführung einer in kurzer Zeit ausführbaren, direkten Methode, die im allgemeinen genaue Werte zu geben scheint. Wie aber Harvey selbst angibt, haften diesem kolorimetrischen Verfahren noch einige Unsicherheitsfaktoren an. Hoffentlich lassen sich diese beseitigen. Nitrite gesondert nachzuweisen, ist fürs erste wohl nicht erforderlich, weil in offener See nur ausnahmsweise mehr als 1 mg/cbm Nitrit-N anzutreffen ist. Bei der Ammoniakbestimmung wäre ein Ersatz der Nessler-Reaktion durch ein anderes Verfahren sehr erwünscht. Am meisten aber bedarf die Methode zur Bestimmung der gelösten organischen Stickstoffverbindungen im Meere der Nachprüfung und womöglich des Ersatzes. Ob noch andere Nährstoffe unter Umständen in so geringer Menge vertreten sind, dass sie die Produktion einschränken, ist noch festzustellen.

Summary.

I.

The quantitative study of plankton had already in the last century revealed the fact that richness in organisms varies from one area to another and that in the western Baltic great changes take place in the composition of the plankton in the course of the year, both qualitatively and quantitatively. We have sought for the causes of the differences in the amount of plankton, both as regards time and place, in the favourable or unfavourable growth factors of the plankton algae. The unicellular algae which float in the sea-water (diatoms, peridineans, euflagellates, and schizophyceae) form the "primary food" for the animals, for as is well known only the plants by virtue of their chlorophyll are capable when exposed to sufficient light of forming organic substances from CO_2, H_2O, and various salts. The more organic substance the planktonic algae form per unit of time, and the more rapidly they grow and multiply by bipartition, the more animals can subsist on them.

The external conditions governing the production of the marine plankton are much more simple than in the case of land plants. Three groups of external factors can be distinguished: the nutrition or growth factors proper, the general conditions of life, and the indirect factors of production.

As nutrition or growth factors, on which the speed of growth or propagation immediately depends, light, heat, the water, and all the separate inorganic food substances which must be dissolved in water and be assimilable are the only ones governing the growth of the phytoplankton. All growth factors, both physical and chemical, have a definite optimum for each species of plankton algae. The law of the minimum is to be applied to the unicellular plankton algae in the sea in approximately the following form: each growth factor is effective in proportion to its size and its specific effective value. The more a food substance or light or temperature differs from the optimum for the alga in question the more slowly does the alga grow and multiply per unit of time. If several growth factors simultaneously differ greatly from the optimum, the degree of retardation of the growth is equal to the product of the amounts of retardation caused by each single minimum factor. If a single indispensable food substance is entirely lacking in an area, the growth of the algae comes to a complete standstill.

From the composition of the sea-water on the one hand and the planktonic algae on the other it is clear that most biogen elements in the sea-water occur in an optimum quantity, whereas some of them e.g. compounds of nitrogen and phosphorus are represented only in extremely small, scarcely perceptible traces, so that they must influence the intensity of production in the sea. I consequently regarded (1899 and 1901) first and foremost nitrogenous compounds and phosphates as minimum substances. Together with carbon dioxide they are the most important of all food substances for plants, since every living organism, be it animal or plant, contains nitrogen in the proteins and phosphoric acid in addition in the nucleo-proteids etc. I pointed out the necessity of determining quantitatively by suitable methods the minute traces of phosphates and of the different nitrogen compounds in the sea-water, not only in the upper water layers but also at the bottom and just above it, since the food salts must always be renewed from the sea bottom upwards.

Proceeding from the hypothesis that the circulation of the nitrogen in the sea did not differ essentially from that on land and in fresh-water, I assumed (1899) that the ammonia carbonate formed by septic bacteria from decaying albuminous substances was transformed by nitrifying bacteria into nitrite and nitrate. Baur and I (9b. p. 73) found nitrifying bacteria in two bottom samples from Kiel Fjord. Whereas Gran and Nathansohn obtained negative results, Thomsen, Jssatschenko and Harvey also later demonstrated the presence of nitrifying bacteria in bottom samples. Nitrate is thus formed on the sea bottom and is not solely brought to the upper layers of the sea from without.

Further, investigations by Baur and myself (1901), Gran, Feitel, Gräf, Drew, Jssatschenko and others have established the fact in general denitrifying bacteria are present in sea-water and on the sea bottom. Since the activity of the bacteria is promoted, as is known from experience, by a higher temperature, I had regarded it as probable

(1899) that the liberation of elementary nitrogen from the nitrate by denitrifying bacteria occurred pre-eminently in the warm parts of the sea, and that the relative scarcity of plankton in the tropical and sub-tropical seas was connected with this destruction of the most important food substances for plants.

As external conditions for the production of sea algae are to be accounted, as already mentioned, in addition to the growth factors, the general conditions of existence and the indirect conditions of production.

Only when the conditions of existence, which differ for each species of planktonic algae, are normal do good food conditions exert an accelerating influence on the speed of growth and unfavourable conditions a retarding influence. The following may be mentioned amongst others as constituting normal conditions of existence: water possessing a certain content of sea-salts and of free oxygen, and a certain degree of alkalinity (pH value). It should also be mentioned that poisons and other injurious substances must not be present in the water. The conditions of existence do not bring about an acceleration of the process of nutrition and growth, but they may on the other hand check the growth if the needs of any species are not entirely complied with. An example of this may be given. In the water the quantity of phytoplankton is extremely small despite the presence in abundance of the minimum substances. I have sought for the causes of this in toxic substances or the other metabolic products of bacteria and in the debased pH value (11 p. 48).

The indirect conditions of production in themselves neither arrest nor accelerate the nutrition of the sea algae. They may be enumerated as follows: the different movements of the water, the horizontal and vertical currents, the movements of the tides and the motion of the waves, the wind which induces the movement of the water, the rain and snow, and the rivers supplying the sea-water with fresh food substances. All these, however important and even indispensable they may be for supplementing and distributing the food substances and for disseminating the planktonic organisms, do not in themselves exert the slightest influence upon the process of nutrition. Nathansohn's hypothesis, that the thriving of the planktonic algae is dependent first and foremost on the vertical movements in the sea and that the law of the minimum only applies to arable soil and not to the sea, is refuted.

II.

The methods utilized by Raben to demonstrate quantitatively the presence of the different nitrogen compounds are given, as are also some results of the same. The results as to the content of ammonia and nitrate in the sea-water, which Raben, Ringer, Gebbing and Gräf have obtained with Raben's methods, are examined rather more closely. In the deep layers and on the sea bottom more nitrate is present than in the euphotic layers, whilst the ammonia content remains fairly uniform. Two maxima for nitrate have been found in the surface water of the North Sea and the Baltic, one in February and March, the other at the commencement of September. The content was lowest in July, and next lowest in August and November. In tropical regions of the oceans a

comparatively low nitrate content was found in the surface water, but a very considerable content at depths of several hundred metres (maximum of about 800 m.). In the Antarctic the nitrate content was high throughout the whole body of water, the temperature being almost uniform.

Further is given Raben's method for determining the phosphate. The phosphate curve for the surface water of the North Sea from the middle of February till the beginning of September runs in the opposite direction to the curve of brightness and temperature: this corresponds with the greater consumption of food substances by the planktonic algae and with the more scanty renewal from the bottom. The absolute values for P_2O_5 are probably too high. From the condition in which I found plankton in the western Baltic (intermediate depth 20 m.) I have estimated the annual consumption by the planktonic algae (apart from the benthonic plants) at 167 mg./cm. N. and 72 mg./cm. P_2O_5 (15 p. 101). This amount of phosphate is double as great as the value obtained by Atkins in quite a different way at the station E_1 (depth 70 m.) i.e. 30(39) mg./cm. P_2O_5. I give two examples showing that the amount of phytoplankton produced annually in the Belt Sea (at Bülck) is at least double as great as at E_1. One of these refers to the ceratier, the other to the copepods. Hence the determinations made by Atkins of the phosphate content in sea-water are more accurate than the values, many times higher, obtained by Raben.

III.

The methods applied extensively until 1914 by Raben have been recently improved or replaced by other processes, namely by those of Witting, Buch and Gad-Andresen for nitrogen compounds, by Matthews, Atkins, Wattenberg and others for P_2O_5, by Harvey for N_2O_5, and by Schreiber for P_2O_5 and compounded nitrogen. The new methods are stated briefly and the results obtained are compared, both one with another and with the older methods of Raben and others.

Buch, on the strength of his investigations, considers it to be fairly certain that the normal NH_3 content in the open sea lies approximately between 0.01 and 0.05 mg. per litre. With this correspond the results for instance which Raben obtained with freshly examined water samples from the Baltic and the North Sea (1910—1914), i.e. 38 (41) mg./cm.

Matthews has utilized various processes for determining the phosphate. A gravimetrical process, similar to that of Raben, had produced fairly high values. Matthews (45) found that the cause of this lay in the fact that even the purest chemicals of Merck and Kahlbaum contained traces of phosphate. This is also possibly the principal reason for Raben's phosphate values being too high. A further source of error may have consisted in the fact that we kept the ten litres of filtered sea-water, which was necessary to each analysis, in a wicker flask of white glass. As stated by Atkins, it must be kept in green bottles since white glass contains phosphate and gives off phosphate to the water.

Atkins (1923) made use of a highly sensitive method, specified by Denigès and improved by Florentin, for the quantitative determination of phosphoric acid. This

colorimetric process has moreover, in comparison with RABEN's gravimetrical process, the great advantage of enabling a determination to be made within ten minutes. ATKINS determined with his process the phosphate content in the English Channel at station E_1 in 1923—26 every month at various depths. The annual mean for the surface water is 15.2 mg./cm. P_2O_5, for the bottom water (depth 70 m.) 21—22 mg./cm. P_2O_5. During the five months May-September the values for the surface water lay between 0 mg. and 10 mg. for all four years, amounting on an average to 3—4 mg. The phosphate values for the surface water in the warmer seas were low, similar to the values at E_1 in summer.

In 1926 MARSHALL and ORR also carried out systematic investigations, in accordance with ATKIN's method, every week at two stations (Clapochlar and Head) in Loch Strivan. The values obtained in this narrow arm of the sea are in general, as was to be expected, higher than those obtained by ATKINS at E_1. In order to show the considerable differences between the values obtained by RABEN's and ATKIN's processes, the annual means are given for the surface water and the water near the bottom at E_1, Clapochlar and the North Sea. In spite of the considerable difference between the absolute phosphate values, the deductions drawn from them as to the relative content agree in essential points.

During the "Meteor" Expedition (1925—27) WATTENBERG, who was not acquainted with the works of ATKINS, made extensive investigations by means of the Denigès process of the phosphate content in the southern Atlantic. Up to now we possess only a brief preliminary statement in the third Report (1927). Two curves represent the distribution of phosphate in the tropical region and in approximately Lat. 50° S. The curve for the tropical region shows that the principal differences are confined to the uppermost layers (down to the discontinuity layer), relatively uniform values (roughly 100 mg./cm. P_2O_5) prevailing below. In contrast with this, in the higher latitudes an impoverishment of the upper layers owing to the metabolic processes of the plankton is checked by the high convection. That ATKINS found far less phosphate in the one column of water investigated by him in the sub-tropical North Atlantic (37°44′ N. 13°21′ W.) than WATTENBERG found in the tropical Atlantic is presumably due to the asymmetrical circulation in the depths of the Atlantic Ocean at the Equator, which has recently been described in a condensed form by WÜST and DEFANT.

Whereas up to 1925 since the time of Raben the nitrate had been reduced to ammonia by hydrogen and then determined as such, HARVEY (1926) now demonstrated the presence of the nitrate directly. He developed a colorimetric process of Denigès (the formation of a red compound with an acid solution of reduced strychnine) into a quantitative method which is most accurate when the water is almost free from nitrate. HARVEY obtained far lower nitrate values at the station E_1 and at other places than RABEN obtained for instance in the North Sea and Baltic, or GRÄF and GEBBING in the open ocean. On the other hand RINGER (1905—1906), although he carried out the nitrogen determinations in exact accordance with RABEN's instructions, obtained a value for the nitrate in the surface water of the Zuyder Zee which was as low as that obtained by HARVEY at E_1. HARVEY's explanation for RABEN's too high values is quoted.

Schreiber has quite recently published the results of his biological method, which renders possible — without any chemical analysis — an accurate determination of the phosphate content present in a sea-water sample and of the aggregate content of compounded nitrogen. For this he made use of carteria cultures free of bacteria. In the surface water off Heligoland Schreiber obtained very high phosphate values (annual mean 113 mg.) very similar to Raben's (119 mg.), which are presumably inaccurate. On the other hand, the values for the aggregate nitrogen compounds (126 mg./cm. N) were rather low. To Schreiber is also due the important demonstration that carteria in pure culture free of bacteria consumes all four nitrogen compounds in exact proportion to their nitrogen content.

IV.

In recent years a great advance has been made in this sphere of research. This is due first and foremost to the new methods introduced by Atkins and Harvey. These enable series of water samples to be investigated in a short time. In addition, supplementary investigations into the oxygen content, the degree of alkalinity, and the nannoplankton content have proved very fruitful.

In samples of water drawn from various depths the quantity and species of the small unicellular organisms is determined, after a small portion of the fresh or preserved water samples have been passed through the centrifuge. We are thus in a position to compare the phytoplankton content with the physical and chemical facts which have been discovered for the same samples.

The degree of oxygen saturation and the height of the pH value give us a minimum figure for the intensity of the carbon assimilation prevailing in a definite water layer on the day when the investigation took place. From both determinations it is possible to make a rough calculation of the consumption of carbon dioxide and therewith of the quantity of carbohydrates formed.

V.

The indirect conditions of production mentioned above are of great importance for the renewal of the food substances and thereby for the better thriving of the sea algae, although as already pointed out they have no influence whatever on the feeding processes of the algae. Both the meteorological factors (wind and temperature) and the water movements of different kinds exert a very great influence on the aeration of the sea and on the distribution of the food substances and the planktonic organisms, yet their influence on the production of plankton is only indirect. The same holds good for the supply of food substances from land and from the atmosphere.

In the euphotic layers, in which alone an intense photosynthesis is possible, the minimum substances would be quite consumed by the algae if no replacement took place. A by no means inconsiderable renewal occurs constantly through the agency of animal life. The excretions of the planktonic animals continually enrich the sea-water with phosphates and nitrogenous compounds. Dead planktonic animals sinking down through the water as well as dead fish etc. are consumed on the sea bottom by bottom

animals or are transformed into inorganic forms by bacteria of different species together with the excretions of the often very numerous bottom animals and with the remains of dead animals and plants on the bottom. The mineralized food substances which cannot be utilized by the deep sea animals have been brought gradually in the course of years by diffusion and currents up from the bottom into the neighbourhood of the euphotic layers. In the whole body of water from a depth of more than 3000 metres up to a depth of about 200 metres WATTENBERG during the "Meteor" Expedition demonstrated a content of about 100 mg./cm. P_2O_5.

The food salts, in solution on the sea bottom and in the deep layers of water where the light is dim or entirely lacking, which for the most part are produced by the community living on the sea bottom are of no benefit to the phytoplankton until they are brought by vertical currents to the euphotic layers. Of upward currents the most important are the "stream currents" and the convection currents. When a strong wind is blowing from land the surface water along the coast is forced away and deep water, which is cooler and as we now know richer in food substances, is sucked up. Also in the seasons of thermic stratification and in regions with saline stratification this enrichment takes place when a stormy wind produces a damming effect. PUFF had already in 1890 realized that upward currents on many a coast produce an amazing wealth of plankton.

The greater abundance of organisms in the coastal and shallow-water regions than in the open sea is caused principally by three factors which are stated in detail.

Of still greater importance for the distribution of the food substances than the "stream currents" are the convection currents. It was already in the last century realized by WHIPPLE with respect to the American lakes that at the time of the spring and autumn outbursts of diatoms not only diatoms but also nitrogen compounds were brought from the bottom up to the surface by the vertical circulation caused by the equalizing of the temperature. That the rising of deep water rich in food substances into the euphotic layers is checked also in the sea by the thermic stratification has been proved by ATKINS and others. The periodicity of the plankton in the temperate zone is connected with the change of stratification and mixing of the water, and the renewal of the food substances which is thereby occasioned and varies greatly. The scanty renewal of the food substances in the euphotic layers in the tropical regions owing to continuous thermic stratification affords a very illuminating explanation for the relative poverty of phytoplankton in the tropical seas. The working hypothesis put forward by me in 1899 to the effect that denitrification was the cause of this is thereby rendered untenable.

It is probably now generally acknowledged that of the chemical factors it is the phosphates and the nitrogen compounds which are first and foremost of importance for the production in the sea.

Consequently research into the circulation of the phosphoric acid and the nitrogen in the sea is of great importance for the understanding of the aggregate metabolism in the sea. Before all else it is necessary to establish as accurately as possibly in what amount the phosphate and the four different nitrogen compounds exist under natural conditions in the sea-water and how they are distributed as regards time and place in the different water layers.

Literaturverzeichnis.

1. Allen, E. J. u. Nelson, E. W. 1910. On the Artificial Culture of Marine Plankton Organisms. Journ. Mar. Biol. Assoc. VIII., p. 422—472.
2. Atkins, W. R. G. 1922. The Hydrogen Ion Concentration of Sea Water in its Biological Relation. Journ. Mar. Biol. Assoc. XII., p. 717—771.
3. — 1923. The Phosphate Content of Fresh and Salt Waters in its Relationship to the Growth of the Algal Plankton. Part I. Journ. Mar. Biol. Assoc. XIII., p. 119—150.
4. — 1925. Seasonal Changes in the Phosphate Content of Sea Water in Relation to the Growth of the Algal Plankton during 1923 and 1924. Part II. Journ. Mar. Biol. Assoc. XIII., p. 700—720.
5. — 1926. The Phosphate Content of Sea Water in Relation to the Growth of the Algal Plankton. Part III. Journ. Mar. Biol. Assoc. XIV., p. 447—467.
6. — 1926. A quantitative consideration of some factors concerned in plant growth in water. Part II. Some Chemical Factors. Journ. du Conseil, Vol. I, Nr. 3, p. 197—226.
7. Baur, E. 1901. Ueber zwei denitrifizierende Bakterien aus der Ostsee. Wiss. Meeresunters. Kiel. Bd. 6.
8. Brandt, K. 1898. Beiträge zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des Planktons. Wiss. Meeresunters. Kiel. Bd. 3.

9a.— 1899. Ueber den Stoffwechsel im Meere. Wiss. Meeresunters. Kiel. Bd. 4.

9b.— 1901. Ueber den Stoffwechsel im Meere. 2. Abhandl. Ibid. Bd. 6.

10. — 1905. Ueber die Produktion und die Produktionsbedingungen im Meere. Gesamtbericht 1902—04. Rapp. Proc.-Verb. Cons. Int. Vol. III.
11. — 1906. Vergleichende Untersuchung des Stettiner Haffes und des Papenwassers. III. Jahresbericht. Die Beteil. Deutschl. an der Intern. Meeresforschung. Berlin.
12. — 1915. Ueber den Nitratgehalt des Ozeanwassers und seine biologische Bedeutung. Nova Acta. Abh. Leop.-Carol. Deutsche Akad. Naturforsch. Bd. 100, Nr. 4.
13. — 1920. Ueber den Stoffwechsel im Meere. 3. Abhandl. Wiss. Meeresunters. Bd. 18. Kiel.
14. — 1921. Ueber Menge und Bedeutung der wichtigsten Pflanzennährstoffe im Meere. Nr. II. Festschrift d. Preuss. Komm. z. wiss. Unters d. deutsch. Meere zu Kiel. Kiel u. Leipzig (Verlag von Lipsius u. Tischer), p. 7—38.
15. — 1925. Die Produktion in den heimischen Meeren und das Wirkungsgesetz der Wachstumsfaktoren. Berichte Deutsch. wiss. Komm. f. Meeresforsch. N. F. Bd. 1.
16. — 1927. Stickstoffverbindungen im Meere. I. Wiss. Meeresunters. Abtlg. Kiel XX. Bd.
17. Buch, Kurt. 1915. Bestimmungen des Ammoniakgehaltes im Wasser der Finnland umgebenden Meere. Oefv. Finska Vet.-Soc. Förh. Bd. 57. Afd. A. Nr. 21. Helsingfors.
18. — 1920. Ammoniakstudien an Meer- und Hafenwasserproben. Merentutkimuslaitoksen Julkaisu, Havsforskningsinstitutets Skrift, Nr. 2. Helsingfors.
19. — 1923 Methodisches über die Bestimmung von Stickstoffverbindungen im Wasser. Ibid. Skrift Nr. 18. Helsingfors.
20. Denigès, M. G. 1920. Réaction de coloration extrêmement sensible des phosphates et des arséniates. Compt. rend. de l'acad. d. scienc. Tome 171, p. 802—804. Paris.

21.a Drew, G. Harold. 1911. The Action of some Denitrifying Bacteria in Tropical and Temperate Seas, and the Bacterial Precipitation of Calcium Carbonate in the Sea. Journ. Mar. Biol. Assoc. 9, p. 142—155.

21b. — 1914. On the Precipitation of Calcium Carbonate in the Sea by Marine Bacteria and on the Action of Denitrifying Bacteria in Tropical and Temperate Seas. Papers from the Marine Biological Laboratory at Tortugas.

22. Feitel, Rud. 1903. Beiträge zur Kenntnis denitrifizierender Meeresbakterien. Wiss. Meeresunters. Kiel. Bd. 7.
23. Gad-Andresen, K. L. 1923. A method for quantitative determination of ammonia nitrate and nitrite together with other nitrogenous compounds, in sea water. Publications de Circonstance Nr. 82. Copenhague. Cons. Perm. Internat. pour l'Expl. de la Mer.

24. Gebbing, J. 1909. Chemische Untersuchungen von Meeresboden-, Meerwasser- und Luft-Proben der Deutschen Südpolar-Expedition 1901—1903. Deutsche Südpolar-Exp. Bd. VII, p. 192—194, Berlin.
25. — 1910. Ueber den Gehalt des Meeres an Stickstoffnährsalzen. Int. Rev. Hydrogr. Hydrobiol. 3. Bd.
26. Gräf, 1909. Biologie. Forschungsreise S. M. S. »Planet« 1906—07. IV. Bd. Berlin.
27. Gaarder, Torbjørn u. Gran, H. H. 1927. Investigations of the Production of Plankton in the Oslo Fjord. Cons. Perm. Intern. pour l'Explor. de la Mer. Rapp. et Proc.-Verb. des Réun. Vol. XLII. Copenhague.
28. Gran, H. H. 1902. Studien über Meeresbakterien. I. Reduktion von Nitraten und Nitriten. Bergens Museums Aarbog 1901. Nr. 10.
29. — 1904. Havets Bakterier og deres Stofskifte. Naturen. Bergen.
30. — 1912. Pelagic Plant Life. Chapter VI in Murray u. Hjort, The Depths of the Ocean. London 1912, p. 307—386.
31. — u. Gaarder, T. 1918. Ueber den Einfluss der atmosphärischen Veränderungen Nordeuropas auf die hydrographischen Verhältnisse des Kristianiafjords bei Dröbak im März 1916. Publ. de Circonst. Nr. 71. Cons. Perm. Int. pour l'Expl. de la Mer. Copenhague.
32. Gran, H. H. 1927. The Production of Plankton in the coastal waters off Bergen March-April 1922. Rep. on Norw. Fish. and Mar. Invest. Vol. III Nr. 8. Bergen.
33. Gran, H. H. u. Ruud, Birgithe 1926. Untersuchungen über die im Meerwasser gelösten organischen Stoffe und ihr Verhältnis zur Planktonproduktion. Oslo. Avhandl. utgitt av Det Norske Videnskaps-Akademi i Oslo. I. Matem.-Naturvid. Klasse. 1926 Nr. 6.
34. Gran, H. H. u. Ruud, Br. 1927. Ueber die Planktonproduktion im Hurdals-See. Oslo.
35. Harvey, H. W. 1926. Nitrate in the Sea. Part I. Journ. Mar. Biol. Assoc. 14, p. 71—88.
36. — 1928. Nitrate in the Sea. Part II. Journ. Mar. Biol. Assoc. 14, p. 183—190.
37. — 1928. Biological Chemistry and Physics of Sea Water. Cambridge Comparative Physiology.
38. Hentschel, E. 1926—1927. Bericht über die biologischen Arbeiten. Die Deutsche Atlantische Expedition. I.—IV. Bericht, Zeitschr. d. Ges. f. Erdkunde, Berlin.
39. Issatschenko, B. u. Rostowzew, S. 1910. (russisch). Denitrifizierende Bakterien aus dem Schwarzen Meer. Petersburg.
40. Issatschenko. B. 1914. Recherches sur les microbes de l'Océan Glacial Arctique. Petrograd.
41. — 1926. Sur la nitrification dans les mers. Compt. Rend. t. 182 p. 185 (Sitzung v. Jan.) Paris.
42. Iterson jr., G. van 1904. Anhäufungsversuche mit denitrifizierenden Bakterien. Centralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskr. II. Abt. Bd. XII. Nr. 4—5. Jena.
43. Lohmann, H. 1908. Untersuchungen zur Feststellung des vollständigen Gehaltes des Meeres an Plankton. Wiss. Meeresunters. Kiel Bd. 10.
44. Marshall, S. M. u. Orr, A. P. 1927. The Relation of the Plankton to some Chemical and Physical Factors in the Clyde Sea Area. Journ. Mar. Biol. Assoc. 14, p. 837—868.
45. Matthews, Donald J. 1916. On the Amount of Phosphoric Acid in the Sea-Water off Plymouth Sound. Journ. Mar. Biol. Assoc. 11, p. 122—130, Part I.
46. — 1917. Desgl. Part II, p. 251—257.
47. Nathansohn, A. 1906. Vertikale Wasserbewegung und quantitative Verteilung des Planktons im Meere. Annal. d. Hydr. u. Marit. Meteorol.
48. — 1906. Ueber die Bedeutung vertikaler Wasserbewegungen für die Produktion des Planktons im Meere. Abh. Sächs. Ges. Wiss. Math.-phys. Kl. Bd. 29.
49. — 1908. Ueber die allgemeinen Produktionsbedingungen im Meere. Internat. Revue. Hydrobiol. u. Hydrogr. Bd. 1.
50. Natterer, Konrad. 1893. Chemische Untersuchungen im Oestlichen Mittelmeer. III. Reise S. M. S. »Pola« im Jahre 1892. Denkschr. Ak. Wiss. Wien. Bd. 60. (p. 72).
51. — 1894. Desgl. IV. Reise S. M. S. »Pola« 1893. Ibid. Bd. 61. (p. 67).
52. — 1895. Tiefseeforschungen im Marmara-Meer auf S. M. S. »Taurus« im Mai 1894. Ibid. Bd. 62. (p. 20 u. f.).

53. Orr, A. P. 1926. The Nitrite Content of Sea-Water. Journ. Mar. Biol. Assoc. XIV. Plymouth.
54. Palitzsch, Sven. 1923. Alkalinity and Hydrogen Ion Concentration of Ocean Waters. Internat. Revue 11. p. 398—437.
55. Parlandt, D. 1911. Ueber einige denitrifizierende Bakterien aus dem Baltischen Meere, (russisch). Petersburg.
56. Pütter, Aug. 1907. Der Stoffhaushalt des Meeres. Jena. Zeitschr. f. allgemeine Physiol. Bd. 7. p. 321.
57. Puff, Adolf. 1890. Das kalte Auftriebwasser an der Ostseite des nordatlantischen und der Westseite des nordindischen Ozeans. Dissert. Marburg.
58. Raben, E. 1904. Ueber quantitative Bestimmung von Stickstoffverbindungen im Meerwasser, nebst einem Anhang über die quantitative Bestimmung der im Meerwasser gelösten Kieselsäure. Wiss. Meeresunters. Kiel. Bd. 8.
59. — 1905. Weitere Mitteilungen über quantitative Bestimmungen von Stickstoffverbindungen und von gelöster Kieselsäure im Meerwasser. Wiss. Meeresunters. Kiel. Bd. 8.
60. — 1910. Dritte Mitteilung über quantitative Bestimmungen von Stickstoffverbindungen und gelöster Kieselsäure im Meerwasser. Wiss. Meeresunters. Kiel. Bd. 11.
61. — 1913. Vierte Mitteilung über quantitative Bestimmungen von Stickstoffverbindungen im Meerwasser und Boden, sowie von gelöster Kieselsäure im Meerwasser. Wiss. Meeresunters. Kiel. Bd. 16.
62. Raben, E. 1916. Quantitative Bestimmung der im Meerwasser gelösten Phosphorsäure. Wiss. Meeresunters. Kiel. Bd. 18.
63. Redeke, H. C. u. Ringer, W. E. 1907. Over de eigenschappen van het Zuyderzeewater. Beilage IV zu Redekes Rapp. Onderzoekingen betr. Visschery in de Zuyderzee 1905 u. 1906, 's Gravenhage.
64. Ringer, W. E. u. Frl. Klingen, J. M. P. 1907. Ueber die Bestimmung von Stickstoffverbindungen im Meerwasser. Verhandl. Rijksinst. Onderzoek der Zee. 2. Deel.
65. Schlösing, A. 1875. Sur l'ammoniaque de l'atmosphère. Compt. Rend. t. 80. p. 175. Paris.
66. Schreiber, E. 1927. Die Reinkultur von marinem Phytoplankton und deren Bedeutung für die Erforschung der Produktionsfähigkeit des Meerwassers. Wiss. Meeresunters. Abtl. Helgoland, XVI. Bd. Nr. 10. Oldenburg i. O.
67. Thomsen, P. 1908. Ueber das Vorkommen von Nitrobakterien im Meere. Wiss. Meeresunters. Kiel, Bd. 11.
68. Wattenberg, H. 1926—1927. Bericht über die chemischen Arbeiten. Die Deutsche Atlantische Expedition. I.—IV. Bericht, Zeitschr. d. Ges. f. Erdkunde. Berlin.
69. Whipple, G. 1894. Some observations on the growth of Diatoms in surface waters. Technology Quarterly.
70. — 1896. Some observations to the growth of Diatoms. Journ. of the New England Water Works Association, vol. 11.
71. — 1899. The Microscopy of Drinking Water. New York.
72. Witting, Rolf. 1914. Zur Methodik der Bestimmung von geringen Ammoniakmengen mit besonderer Berücksichtigung der Meerwasseranalysen. Oefversigt af Finska Vetenskaps-Societetens Förhandlingar. Bd. LVI. 1913—1914. Afd. A. Nr. 15. Helsingfors.
73. Zöppritz. K. 1887. Die polare Herkunft des Tiefenwassers. In G. v. Boguslawski u. O. Krümmel. Handbuch d. Ozeanogr. Bd. II. 1. Aufl. Stuttgart. p. 281—294.
74. Defant, A. 1927. Ueber die wissenschaftlichen Aufgaben und Ergebnisse der Expedition. Zeitschr. Ges. Erdkunde. Berlin.
75. Wüst, Georg. 1928. Der Ursprung der atlantischen Tiefenwässer. Zeitschr. Ges. Erdkunde. Berlin. Jubiläums-Sonderband.

II. Über die Bestimmungen von Stickstoffverbindungen und Phosphaten im Meerwasser.

Von

Kurt Buch.

1. Die Bestimmung von Stickstoffverbindungen.

Von den im Meerwasser vorkommenden Stickstoffverbindungen einfacheren Baues sind bisher folgende zum Gegenstand der Untersuchung geworden, nämlich Ammoniak inkl. Ammonium-ion, Nitrate, Nitrite und der sogen. Albuminoidstickstoff, letzterer eine Kollektivbenennung für solchen organisch gebundenen Stickstoff, der durch starke Alkalien in Form von Ammoniak freigemacht und als solcher bestimmt wird. Folgender Bericht umfasst die im Institute für Meeresforschung in Helsingfors erbrachten Erfahrungen über die Analysenmethodik in betreff des Ammoniaks, Nitrit- und Albuminoidstickstoffs. Die Nitratbestimmung, die neuerdings ausschliesslich nach einer hauptsächlich von H. W. Harvey bearbeiteten Methode geschieht, haben wir noch nicht Gelegenheit gefunden näher zu studieren. Bei unserer Beschreibung sollen zuerst die bei der Ausarbeitung der Methodik gesammelten Erfahrungen für sich behandelt werden und dann gesondert die auf Grund der letzteren gegebenen Untersuchungsverfahren.

a. Ammoniak.

Das zur Zeit einzige für den Nachweis und die Bestimmung des Ammoniaks im Wasser einigermassen brauchbare Reagenz ist das allgemein für diesen Zweck angewandte Nesslerreagenz. Da der direkte Zusatz von diesem Reagenz zum Meerwasser Fällung hervorbringt, muss man entweder das NH_3 durch Destillation austreiben und im Destillate bestimmen oder auch das Reagenz direkt zufügen nach vorheriger Entfernung der durch dasselbe fällbaren Salze.

Destillationsverfahren.

Ersteres Verfahren, das früher allein gebräuchlich war, weist einige Unbequemlichkeiten und Fehlerquellen auf, was bei Inbetrachtziehung auch der Umständlichkeit desselben, die Bestimmung des NH_3-Stickstoffes zu einer wenig beliebten Beschäftigung der Meerwasserchemiker machte. Die verhältnismässig grosse Apparatur mit langen Rohrleitungen bei überaus geringen Mengen Analysenstoff bedingt, dass einerseits absehbare

Substanzmengen an den Rohr- und Kolbenwänden u. s. w. verloren gehen können, andererseits, dass von aussen hinzukommendes NH_3 zu hohe Gehalte ergibt. Als solche Fehlerquelle erkannte Raben[1]), der zuerst den NH_3-Gehalt des Meerwassers in grösseren Mengen untersucht hat, ausser dem stets in der Laboratoriumsluft vorhandenen NH_3 auch die Kork- oder Gummiverbindungen der Destillationsapparatur, welche bei Erhitzung, wovon ich mich auch habe mehrfach überzeugen können, stets Stoffe abgeben, die die Nesslerfarbe verstärken. Unerlässlich ist daher die von Raben gestellte Forderung, dass die heiss werdenden Verbindungen wie Destillationskolben und Destillationsaufsatz aus Glas-Schliffen bestehen sowie, dass der Zutritt der äusseren Luft nur durch ein mit Bimsteinstücken und Schwefelsäure gefülltes Rohr geschehen darf. Um Verluste an den Glaswänden zu vermeiden, fand ich es nötig, zwei Proben desselben Wassers nacheinander zu destillieren. Das Analysenresultat des zweiten Destillates ist das richtige. Bei Destillation einer grösseren Anzahl Proben wurde eine auch zuerst von Raben gemachte Beobachtung öfters bestätigt, dass Stoffe überdestillieren, die die Nesslerfarbe trüben. Es ist besonders dieser Umstand, der die Verarbeitung einer grösseren Anzahl Proben — etwa schon mehr als fünf — sehr erschwert, wenn nicht praktisch unmöglich macht, und welcher unser Institut auch bewog, Versuche mit direkter Nesslerisierung des Meerwassers ohne vorherige Destillation anzustellen. Das aus letzteren resultierende Verfahren ist jedoch nicht immer anwendbar, nämlich bei der Analyse des Albuminoidstickstoffes, welcher auch als Ammoniak bestimmt wird, sowie wenn ein Wasser nicht rein oder farblos ist (z. B. ein verunreinigtes Hafenwasser). In diesen Fällen muss also nach wie vor destilliert werden.

Ausfällungsverfahren.

Die Methode der Ausfällung stützt sich auf eine ursprünglich von R. Witting[2]) ausgeführte systematische Untersuchung mit Hilfe des Spektrophotometers über die Färbung von mit Nesslers Reagenz versetztem Wasser und die auf dieselben wirkenden Faktoren, sowie auf eine Anzahl von mir[3]) fortgesetzter Untersuchungen in derselben Richtung, bei denen desgleichen das Spektrophotometer als Haupt-Kontroll- und Messinstrument Verwendung fand. Das Nesslerreagenz verursacht Fällung hauptsächlich von Sulphaten und Carbonaten, sowie von $Mg^{\cdot\cdot}$ und ev. $Ca^{\cdot\cdot}$, zu deren vorheriger Entfernung

---

[1]) E. Raben: Über quantitative Bestimmung von Stickstoffverbindungen im Meerwasser. Wiss. Meeresunters. Kiel. Neue Folge Bd. 8. 1904. Zweite Mitteilung Bd. 8. 1905. Dritte Mitteilung Bd. 11. 1910. Vierte Mitteilunng. Bd. 16. 1913.

[2]) Rolf Witting: Zur Methodik der Bestimmung von geringen Ammoniakmengen mit besonderer Berücksichtigung der Meerwasseranalysen. Öfversigt af Finska Vetenskaps-SocietetensFörhandlingar. Bd. LVI. 1913—1914. Afd. A. Nr. 15.

[3]) Kurt Buch: Bestimmungen des Ammoniakgehaltes im Wasser der Finnland umgebenden Meere. Öfversigt af Finska Vetenskaps-Societetens Förhandlingar. Bd. LVII. 1914—1915. Afd. A. Nr. 21.

Kurt Buch: Ammoniakstudien an Meer und Hafenwasserproben. Merentutkimuslaitoksen julkaisu, Havsforskningsinstitutets skrift Nr. 2. Helsingfors 1920.

Kurt Buch: Methodisches über die Bestimmung von Stickstoffverbindungen im Wasser. Merentutkimuslaitoksen julkaisu, Havsforskningsinstitutets skrift Nr. 18. Helsingfors 1923.

das Wasser zuerst mit $BaCl_2$ zur Entfernung des SO_4-Ions und sodann mit $NaOH + Na_2CO_3$ zur Entfernung des überschüssigen $Ba^{\cdot\cdot}$ und der übrigen Ionen versetzt wird. Alkali wird zum Zweck der Sterilisation im Überschuss zugesetzt. Die Zugabe geschieht unmittelbar nach der Probeentnahme, am besten mit Hilfe von automatischen Überlaufpipetten, die Analyse nach Heimkehr von der Fahrt. Der aus dem Salzgehalte zu ermittelnde SO''_4-Gehalt des Meerwassers und die zu diesem nötige Menge Ba-Ion, sowie die Löslichkeitszahlen der Fällungsmittel bedingten folgende Konzentrationen als zweckmässig für die Fällungslösungen zu wählen:

1) $BaCl_2$ 2aq 200 gr. pro L.
2) NaOH 200 gr. + $NaHCO_3$ 69 gr. pro L.

Zu $^1/_4$ L. Meerwasser mit höchstens 40 $^0/_{00}$ Salzgehalt werden vom ersten 10 cm^3 vom zweiten 20 cm^3 zugesetzt. Der Niederschlag setzt sich vollkommen klar ab. Das Wasser ist nachher klarer als vorher, weil alle Schwebestoffe mit abgesetzt werden.

Die Fällungslösungen müssen NH_3-frei sein. Zu dem Zweck muss die Zubereitung so geschehen, dass die Chemikalien in etwa der doppelten Menge destillierten Wassers aufgelöst werden, unter Zugabe einer geringfügigen Menge Alkali zur $BaCl_2$-Lösung, worauf bis auf etwas unter das gewünschte Volumen eingekocht und nach dem Erkalten mit NH_3-freiem Wasser zur Marke aufgefüllt wird. Alle Manipulationen sowie Aufbewahrung geschehen unter sorgfältiger Fernhaltung von Luft-Ammoniak (durch oben erwähnte Bimstein-Schwefelsäurerohre). Bisher ungeprüfte jedoch nicht wahrscheinliche Fehlerquellen sind: Möglichkeit der NH_3-Bildung durch Zersetzung von Albuminoidstoffen bei längerem Stehen in ziemlich starkem Alkali sowie Mitreissung von NH_3 durch den Niederschlag. Ersteres ist wenig wahrscheinlich, weil die quantitative Zersetzung bei der Bestimmung des Albuminoidstickstoffes ja tatsächlich nur durch länger andauerndes Kochen mit viel stärkerer Lauge und bei ausserdem anwesenden Oxydationsmitteln zuwegegebracht werden kann. In der Kälte und bei der angewandten Laugenkonzentration kann die ev. neugebildete NH_3-Menge nicht messbar sein, besonders da die Totalmenge von Albuminoidstickstoff gewöhnlich nicht weit über oder sogar unter der Nachweisbarkeitsgrenze liegt. Aus demselben Grunde können durch die ev. Mitreissung auch nur ganz unnachweisbare NH_3-Mengen verschwinden. Eine noch denkbare dritte Fehlerquelle, nämlich die Verdunstung von NH_3 zufolge eines von der erhöhten OH'-Konzentration bedingten höheren NH_3-Partialdruckes wurde schon in einer früheren Arbeit[1]) erörtert und als unnötig in Betracht zu ziehen gefunden.

Eigenschaften des Nesslerreagenzes.

Bei den oben erwähnten spektrophotometrischen Untersuchungen der auf die Nesslerfärbung einwirkenden Faktoren, wurden folgende Beobachtungen gemacht, die für die Messmethodik bestimmend waren: Gehalt und Nesslerfärbung sind einander nicht proportional. Das Beer'sche Gesetz ist also nicht gültig. Die Gehaltsabhängigkeit von

[1]) K. Buch: Bestimmungen des Ammoniakgehaltes im Wasser der Finnland umgebenden Meere. Loc. cit. S. 7.

der Lichtabsorption verläuft für verschiedene Wellenlängen verschieden; also ändert sich nicht nur die Farbstärke sondern auch die Farbnuance mit dem Gehalte. Trotzdem findet man bei geeigneter Wahl der Wellenlänge, um 500 $\mu\mu$ herum, sowie bei geeigneter Nesslerkonzentration, ziemlich gerade verlaufende Extinktionsgehaltskurven. Das lineare Aufwärtssteigen beginnt jedoch stets erst bei einem gewissen Gehaltsminimum. Unterhalb desselben ist der Verlauf fast horizontal, d. h. das Reagenz ist hier für NH_3 fast vollständig unempfindlich. Bei einer Nesslerzugabe von 1:50 streckte sich dieser Unempfindlichkeitsbereich von Null bis 0.05 à 0.06 mg/l. Bei weiterer Zunahme des Gehaltes

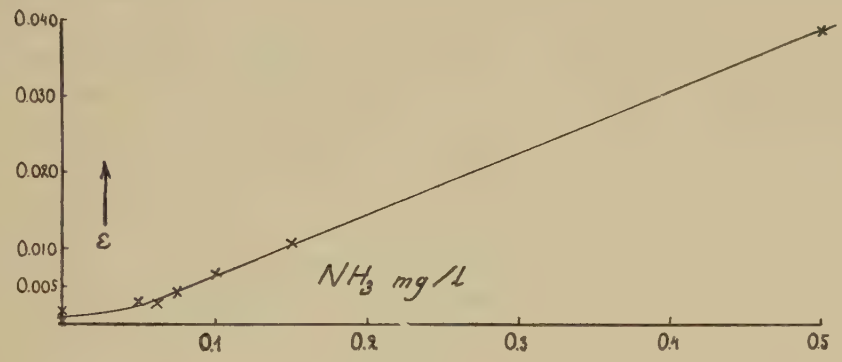


Fig. 1.

stieg die Lichtabsorption für das erwähnte Wellenlängengebiet ziemlich linear und erlaubte kleinere Differenzen als 0.01 mg/l festzustellen. Kleinere Nesslerkonzentration erweitert den Horizontalbereich, grössere verkleinert ihn, wobei noch andere Unregelmässigkeiten auftreten, zu deren Vermeidung die genannte Konzentration bei allen weiteren Messungen beibehalten wurde. Diese Beobachtung wurde zuerst von Witting

Tabelle 1.

NH_3 mg/l	Lichtabsorption ε 488 $\mu\mu$
0.0000	0.0016
	0.0007
0.0500	0.0030
0.0625	0.0027
0.0750	0.0042
0.1000	0.0068
0.1500	0.0109
0.5000	0.0390

Tabelle 2.

0.1 mg/l NH_3	
S ‰	Lichtabsorption ε 488 $\mu\mu$
0.00	0.0068
8.8	0.0098
17.5	0.0119
26.3	0.0118
35.0	0.0129

gemacht und von mir in zahlreichen Versuchsserien stets bestätigt, gewissermassen auch quantitativ, indem für die gleiche Nesslerzugabe 1:50 stets auch derselbe Unempfindlichkeitsbereich gefunden wurde. In Tabelle 1 und Fig. 1 sind die Resultate meiner letzten diesbezüglichen Serie wiedergegeben, die Messungen bei 488 $\mu\mu$ ausgeführt.

Die Nesslerfärbung ist auch von der Alkalinität und dem Salzgehalte des Wassers abhängig. Da die älteren Untersuchungen nur mit Wasser vom inneren Ostseebecken ausgeführt wurden, war eine Prüfung in dieser Hinsicht auch für Ozeanwasser von nöten. Die Rolle der verhältnismässig wenig variierenden Alkalinität ist unbedeutend, weshalb nur der Salzgehalteinfluss und bis auf weiteres in nur einem Versuche mit 0.1 mg/l NH_3 von Null bis 40 ‰ untersucht wurde (Tabelle 2, Fig. 2). Man findet den Einfluss bei höheren Salzgehalten beträchtlich kleiner als bei niedrigen; zwischen 25 und 35 ‰ könnte er fast als belanglos angesehen werden. Weitere beeinflussende Faktoren sind: die schon erwähnte Grösse der Nesslerzugabe, die individuelle Beschaffenheit des Reagenzes, Temperatur, die zwischen Nesslerzugabe und Messung verflossene Zeit, sowie die Klarheit des Wassers (Vorhandensein von Schwebestoffen u. a.). Letzterer Umstand ist nur von Bedeutung bei nicht durch Ausfällung behandeltem Wasser, da, wie oben erwähnt, die Schwebestoffe durch den Niederschlag fast vollständig mitgerissen werden. Die übrigen Faktoren können durch Konstanthaltung und bei stets gleicher Behandlung sowohl des Untersuchungswassers als des dem Farbenvergleich dienenden Standardwassers mit bekannten NH_3-Gehalten eliminiert werden. Bemerkenswert ist, dass zwei in gleicher Weise dargestellte Nesslerreagenze stets etwas verschiedene Kurven geben, dass aber im ganzen die Empfindlichkeit der verschiedenen Reagenze, auch wenn sie nach verschiedenen Rezepten zubereitet sind, stets ungefähr die gleiche ist.

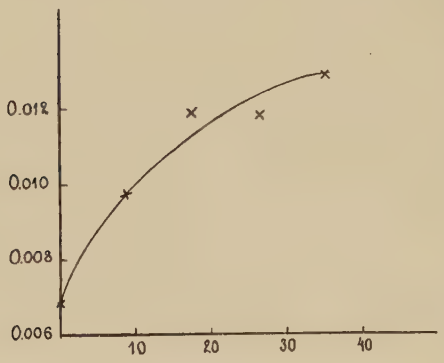


Fig. 2.

Die optische Messung.

Die komplizierte Beschaffenheit der Nesslerfärbung bedingt, dass das einzige theoretisch einwandfreie optische Messinstrument das Spektrophotometer ist, welches auch in der Konstruktion und Ausführung von König-Martens[1]) bei allen hier ausgeführten Arbeiten benutzt wurde. Die Lichtabsorption oder Extinktion der mit Nessler versetzten in 25 cm langen Rohren aufgenommenen Proben, wurden stets auf dasselbe Wasser in gleich langen Rohren ohne Nessler bezogen, wodurch nur die Absorption der Nesslerfärbung unter Elimination der des Wassers bestimmt wurde. Die Genauigkeit betrug etwa 0.01 mg/l. Die Anwendung eines Kolorimeters verbietet sich aus dem Grunde, weil dieses erstens die Gültigkeit des Beer'schen Gesetzes voraussetzt und zweitens die Flüssigkeitsschichten der miteinander zu vergleichenden Lösungen nicht gleich dick sind. Bedeutend zweckmässiger ist es, eine Serie Lösungen mit bekannten NH_3-Gehalten fertig zu stellen, desgleichen alle Untersuchungswasser und sodann alle Proben gleichzeitig mit Nessler zu versehen. Die Gehaltsfeststellung geschieht durch Farbenvergleich der Untersuchungsrohre, die flachen Boden haben müssen, mit den Standardgehalten.

[1]) F. F. Martens und F. Grünbaum: Über eine Neukonstruktion des Königschen Spektralphotometers. Annalen der Physik 4 F. 12. Bd. 1903. S. 984.

Mit dem Spektrophotometer verfährt man so, dass zuerst die Serie mit bekannten Gehalten spektrophotometriert wird. Da der Verlauf von 0.05 mg/l aufwärts fast linear ist, kann man sich mit etwa 3 bis 4 Lösungen begnügen. Die Untersuchungswasserproben werden unter genau gleichen Kautelen wie die Standardproben nesslerisiert und spektrophotometriert, sowie der Gehalt graphisch interpoliert. Um stets bei Gehalten über 0.05 mg/l zu arbeiten, müssen allen sowohl Untersuchungs- als Standardproben von vornherein 0.05 mg/l NH_3 zugefügt werden. Wenn die NH_3-Gehalt-Extinktionskurve für ein gewisses Nesslerreagenz und für gewisse in bezug auf Nesslermenge, Temperatur, Zeit zwischen Nesslerisierung und Messung u. a. konstante Bedingungen festgestellt ist, so sind weitere Vergleichslösungen nicht mehr nötig. Das Verfahren wurde auf zwei Terminfahrten 1915 und 1919 erprobt. Sämtliche Bestimmungen mit mehr als einer Probe stimmten innerhalb 0.02 mg/l überein. Der überaus grösste Teil der Differenzen war kleiner als 0.01 mg/l. Da sämtliche ausgeführten Messungen nur Wasser mit stark variierenden aber niedrigen Salzgehalten ($< 7\ ^0/_{00}$) umfassten, musste die Salzgehaltsbeeinflussung beachtet werden, welches in der Weise geschah, dass als Standardwasser ein Wasser mit ungefähr dem mittleren Salzgehalte gewählt wurde und sodann alle Untersuchungswasser auf den Salzgehalt des letzteren gebracht wurden, durch Zusatz von entweder Wasser höheren und bekannten Salzgehaltes oder von destilliertem Wasser. Da dieses mühsam und zeitraubend ist, sollen in Zukunft Versuche gemacht werden, der Salzgehaltsbeeinflussung durch Korrektur Rechnung zu tragen. Für Wasser mit höheren Salzgehalten dürften diese Massnahmen wie erwähnt kaum nötig sein. Über das praktische Verfahren bei der Probeentnahme und optischen Bestimmung des NH_3-Gehaltes wird weiter unten im letzten Abschnitt berichtet.

b. Albuminoidstickstoff.

Die zweckmässigste Methode zur Bestimmung des sogen. Albuminoidstickstoffs dürfte die von Wanklyn, Chapman und Smith sein[1]). 1923 wurden von mir einige Versuchs-Serien mit bekannten Mengen Tyrosin und Leucin ausgeführt, bei welchen die quantitative Wiedergabe der abgemessenen Stickstoffmengen konstatiert wurde. Hier ist nur das Destillationsverfahren möglich. Auch wurde gerade bei diesen Versuchen die erwähnte Notwendigkeit zweier Destillationen hintereinander, von denen der erhaltene Wert der zweiten der richtige ist, gefunden. Im übrigen kann der Wert der ganzen Bestimmungsart in Frage gestellt werden. Er entspricht einem Zweck, wenn die bei derselben festgestellten Stickstoffmengen zusammenfallen mit denjenigen, die ausser NH_3, NO_2, NO_3 den Lebensorganismen im Wasser als Nahrung dienen und so als solche unmittelbar an der Produktion beteiligt sind. Da man hierüber noch nichts weiss, sollte die letzte Frage zuerst untersucht werden.

---

[1]) Journ. Chem. Soc. N. S. 5. S. 591. Ref.: Tiemann-Gärtners Handb. d. Unters. u. Beurth. d. Wässer. Braunschweig 1895. S. 263.

c. Nitritstickstoff.

Als beste Methode wurde die von Gries-Ilosway[1]) mit Sulfanilsäure and α-Naphtylamin in essigsaurer Lösung gefunden. Eine systematische optische Untersuchung mit dem Spektrophotometer über die Faktoren, die die Färbung beeinflussen, welche dieses Reagenz in nitrithaltigem Wasser hervorbringt, ergab Einwirkung von Temperatur, der zwischen Reagenzzusatz und Messung verflossenen Zeit und Salzgehalt (unbedeutend). Das geeignetste Verfahren ist Farbenvergleich mit einer in genau der gleichen Weise wie das Untersuchungswasser behandelten Standardserie mit bekannten Gehalten. Der Nitritgehalt muss möglichst bald nach der Probeentnahme also bei Terminfahrten an Bord bestimmt werden.

d. Ausführung der Bestimmungen.

Ammoniak.

Ausrüstung an Bord.

1) Eine Anzahl schmaler langhalsiger Flaschen von etwa 300 cm³ Inhalt, verschlossen mit paraffinierten Korken und einer Gummikappe (Gummifinger).
2) Fällungsreagenzien (siehe Seite 38) in zwei Flaschen, versehen mit automatischen Überlaufpipetten, in welche die Flüssigkeiten mit einem Gummiballon hinaufgedrückt werden. Der Flaschenverschluss muss vollkommen luftdicht sein. Luftzugang nur durch NH_3 und CO_2 absorbierende U-Rohre.

Probeentnahme.

Die Füllung der Flaschen geschieht direkt aus dem Wasserschöpfer bis zur Marke, nach vorheriger gründlicher Spülung, worauf die Fällungsmittel sofort zugesetzt, (zuerst $BaCl_2$) und die Flaschen zur Analyse aufbewahrt werden. Obige Wasserportion von 250 cm³ verlangt 10 cm³ $BaCl_2$ und 20 cm³ Alkali bei den Seite 38 angegebenen Konzentrationen.

Analyse der Proben.

A. Kolorimetrisch.

1) Herstellung einer Serie Vergleichslösungen mit bekannten Gehalten in 100 cm³ Portionen, aufgenommen in Rohren mit flachem Boden. Das Wasser muss ungefähr den Salzgehalt des Untersuchungswassers haben. Die Intervalle zwischen den höheren Gehalten können grösser als zwischen den niedrigeren (für letztere etwa 0.02 mg/l) sein[2]). Niedrigster Gehalt 0.05 mg/l.

---

[1]) Peter Gries: Berichte d. Deutsch. Chem. Ges. Bd. 12. S. 427. 1879. Ilosway: Bul. Soc. chim. Serie 3 Bd. 2 S. 317. Über Zubereitung des Reagenzes siehe auch Treadwell: Qualitative Analyse. 11. Aufl. 1920 S. 332.

[2]) Die optischen Fehler steigen mit den Gehalten, sind also in Prozenten des Gehaltes gerechnet ungefähr konstant.

2) Die Untersuchungsproben werden vom Niederschlag in die Kolorimeterrohre abgehebert oder filtriert (in wohlgelüftetem Raume), jede Probe mit 0.05 mg/l NH_3 versehen. Totalvolumen 100 cm³. Zweckmässig können die Rohre mit einer Marke versehen sein. Das NH_3 wird dann zuerst zugesetzt, wonach bis zur Marke mit dem abgeheberten Wasser gefüllt wird.
3) Nachdem so alles zur Kolorimetrierung vorbereitet ist, werden sämtliche sowohl Untersuchungs- als Vergleichsrohre mit 2 cm³ Nesslerreagenz versehen und nach ca. 1 Stunde Stehen kolorimetriert.

B. Spektrophotometrisch.

Die Vergleichslösungen 200 cm³ werden mit je 4 cm³ Nessler versehen und 1 Stunde nach Zugabe spektrophotometriert. Über die Handhabung des Apparates und Berechnung der Extinktionskoeffizienten sei auf frühere Literatur hingewiesen[1]). Eine Gehalt-Extinktionskurve wird entworfen und der NH_3-Gehalt aus den Extinktionswerten der Untersuchungsproben graphisch entnommen. Die Extinktionsmessung geschieht natürlich unter genauer Innehaltung gleicher Verhältnisse in Bezug auf Nesslerzugabe, Zeit und auch Zimmertemperatur, wie bei der Spektrophotometrierung der Vergleichslösungen.

Nitrit.

Aufnahme der Probe in 200 cm³ sorgfältig ausgespülten Flaschen direkt aus dem Schöpfer.

Vergleichslösungen: Da extrem verdünnte Lösungen unhaltbar sind, muss eine konzentriertere Lösung mitgebracht werden, die bei Gelegenheit der Bestimmung verdünnt wird. Zweckmässig dürfte eine z. B. nach den Angaben in Treadwell[2]) hergestellte $NaNO_2$-Lösung von etwa 50 mg/l Nitritstickstoffgehalt sein, von welcher schon vor der Fahrt Portionen von 1 cm³ in kleine Flaschen abgemessen werden. Zur Bestimmung wird der Inhalt eines Fläschchens in $^1/_2$ L. Messkolben gespült und auf 0.1 mg/l verdünnt. Aus dieser Lösung werden durch Abmessung mit einer Bürette und Verdünnung auf 100 cm³ die Vergleichslösungen hergestellt, von welchen in Anbetracht des stets sehr geringen Gehaltes nicht mehr als vier oder fünf mit einem Höchstgehalte von 0.01 mg/l nötig sind.

Nach Fertigstellung der Vergleichslösungen werden auch die Untersuchungsproben in die Kolorimeterrohre abgemessen, sämtliche Rohre gleichzeitig mit dem Reagenz versetzt (etwa 5 cm³) und in einen Kübel mit warmem Wasser gestellt. Kolorimetrierung nach etwa einer Stunde.

Albuminoidstickstoff.

Praktische Erfahrungen mit Meerwasserproben liegen nicht vor. Da das Destillationsverfahren unvermeidlich ist, werden zweckmässig die Proben sterilisiert und nach

[1]) Siehe Hinweise Seite 37 und 40.
[2]) Quantitative Analyse. 9. Aufl. 1921. S. 296.

Heimkehr untersucht. Sublimat ist zur Sterilisation nicht anwendbar. Nahe zur Hand liegt Anwendung der Ausfällungslauge zur NH_3-Bestimmung. Die Zersetzung der Proben geschieht nach den angeführten Angaben von Wanklyn, Chapman, Smith, die Destillation nach denen von Raben und Buch, die Kolorimetrierung wie bei der NH_3-Bestimmung angegeben.

Nesslers Reagenz; Herstellungsvorschriften.

1) Reagenz nach Ringer und Klingen[1]).
   35 gr KJ werden in 100 cm^3 H_2O gelöst; dieser Lösung werden unter Umrühren eine unter Erwärmung erhaltene Lösung von 16 gr $HgCl_2$ in 300 cm^3 Wasser zugesetzt bis ein bleibender Niederschlag entsteht.
   Weiter werden 200 gr reines KOH in 600 cm^3 H_2O gelöst und diese Lösung langsam unter Umrühren zu der Kaliumquecksilberjodidlösung gegeben.

2) Reagenz nach Raben[2]).
   "No. I. 50 gr Iodkalium (KJ) werden in 50 gr Wasser gelöst und die Lösung zum Kochen erhitzt.
   No. II. 25 gr Quecksilberchlorid ($HgCl_2$) und 300 gr Wasser werden gekocht, bis das Sublimat gelöst ist.
   No. III. Die kochende Lösung No. II wird unter Umschütteln in die kochende Lösung No. I hineingegossen (also die Sublimatlösung in die Iodkaliumlösung).
   No. IV. Dann lässt man das Reaktionsprodukt No. III erkalten durch Kühlung mit kaltem Wasser.
   No. V. Man löst 150 gr reines Kalihydrat (KOH *alcohole depuratum* von Merck in Stangen) in 300 gr Wasser und lässt es erkalten.
   No. VI. Man filtriert Flüssigkeit No. IV durch ein angefeuchtetes Filter in die Lösung No. V hinein und füllt mit Wasser zu einem Liter auf." Man lässt einen Niederschlag sich absetzten und hebert das jetzt klare Reagenz vom Bodensatze ab, oder man filtriert mit Hülfe der Saugpumpe durch ein Asbest oder Jenaer Glasfilter.

Unabhängig von der Zubereitungsart ist es am besten, das Reagenz ein paar Tage vor Benutzung stehen zu lassen.

Die Empfindlichkeit beider Reagenze ist nach sowohl Ringer und Klingens als Buchs Erfahrungen ungefär die gleiche.

[1]) W. E. Ringer und Frl. I. M. P. Klingen: Über die Bestimmung von Stickstoffverbindungen im Meerwasser. Verhandelingen uit het Rijksinstituut voor het onderzoek der zee; Tweede deel. 1907—1908 N:o I Seite 10.

[2]) Briefliche Mitteilung an Ringer und Klingen. loc. cit. S. 10.

2. Die Bestimmung von Phosphaten.

Im folgenden wird berichtet über die Resultate einer systematischen spektrophotometrischen Untersuchung der Methode von Denigès[1]) zur Bestimmung des Phosphat-Gehaltes im Meerwasser. Sie fusst bekanntlich auf der Entstehung von Molybdenblau in einer mit Ammoniummolybdat und $SnCl_2$ versetzten Lösung in Gegenwart von geringen Mengen Phosphat-Ion. Das Reagenz wurde zubereitet nach den Angaben von Florentin[2]), wie es schon mehrfach zur Wasseruntersuchung von W. R. G. Atkins[3]), H. W. Harvey u. a. benutzt worden ist. Zur Bereitung desselben stand ein sehr reines NH_4-Molybdatpräparat von Kahlbaum zur Verfügung. Das $SnCl_2$ wurde nach obigen Forschern durch Auflösung von käuflichem Stanniol in konc. HCl dargestellt. Das Präparat enthielt reichlich Kohle, wovon es durch Dekantation befreit wurde. Die Phosphat-Lösungen wurden durch Verdünnung einer Na_2HPO_4-Stammlösung (Kahlbaums Präparat »zur Analyse«) enthaltend 50 mg/l P_2O_5 erhalten. Es wurden sowohl Lösungen mit destilliertem wie salzhaltigem Wasser untersucht. Da kein natürliches Meerwasser, das frei von Phosphaten war, zur Verfügung stand, wurden die Standardlösungen aus künstlichem Meerwasser bereitet. Doch auch dies bereitete Schwierigkeiten, weil nicht alle zur Herstellung nötigen Salze, obwohl die reinsten käuflichen Qualitätsmarken benutzt wurden, sich als phosphatfrei erwiesen. Das Ausgangswasser enthielt 48.8 gr. NaCl, 12.2 gr. $MgCl_2$, 10.0 gr. K_2SO_4 pro Liter. Dasselbe wurde mit destilliertem Wasser und dem Standardphosphat auf die Hälfte also auf 35.0 $^0/_{00}$ verdünnt. Obgleich es ein sehr vereinfachtes Ozeanwasser war, erwiesen einerseits die Übereinstimmung des Verlaufes der Absorptionsspektren einer 0.05 mg/l P_2O_5 enthaltenden Probe dieses Wassers und eines natürlichen Ozeanwassers, dessen P_2O_5-Gehalt graphisch zu ca. 0.095 mg/l ermittelt worden war (Fig. 3) und anderseits der Betracht der Kurven, die den Einfluss des Totalgehaltes der Salze darstellen (Fig. 4), dass der Qualitätsunterschied der Salzgehalte nicht von wesentlicher Bedeutung sein konnte.

Die Spektrophotometrierung wurde ausgeführt mit dem erwähnten Apparat von König-Martens, geliefert von Schmidt und Haensch, Berlin. Die angewandten Rohrlängen waren für die in bezug auf Phosphat verdünnteren Lösungen 25 cm, für Gehalte von 0.05 und 0.075 mg/l wurden 12 cm und für 0.1 mg/l 5 cm Rohre benutzt. Die Messungen wurden auf dieselben Wasserproben ohne Reagenz in gleich langen Rohren bezogen, wodurch die Extinktion des Lösungsmittels eliminiert wurde.

Es seien zunächst die sich über das ganze Spektralgebiet streckenden Messungen mitgeteilt. Dieselben wurden mit destilliertem Wasser sowie 35.5 $^0/_{00}$ künstlichem Wasser

---

[1]) G. Denigès: 1921. Détermination quantitative des plus faibles quantités de phosphates dans les produits biologiques par la méthode céruléomolybdique. Compt. Rend. Soc. Biol. Paris, 84, No. 17, 875—877. Auch C. R. Acad. des Sc. 1920, 171, 802. Ref. W. R. G. Atkins: The phosphate content of fresh and salt waters etc.; Journ. Marine Biol. Assoc. Vol. XIII (N. S.) No. 1. 1923. S. 144.

[2]) D. Florentin: The determination of phosphates in water; Ann. Chim. anal. chim. appl. 3. 295—96. Ref. in der oben zitierten Arbeit von W. R. G. Atkins. S. 144.

[3]) W. R. G. Atkins: Loc. cit. S. 119—150; Seasonal changes in the phosphate content etc. Loc. cit. Vol. XIII No. 3. 1925. S. 700—720; The phosphate content of sea water etc. Part III Loc. cit. Vol. XIV No. 2. 1926. S. 447—467.

+ den bzw. Phosphatmengen 0.1, 0.05, 0.005 mg/l ausgeführt. Sie wurden alle an einem Tage gemessen. Zum Reagenz wurde am Tage vorher bereitetes $ZnCl_2$ benutzt, welches totaliter etwas schwächere Färbung gibt als ganz frisch bereitetes. Die Messungen geschahen hauptsächlich in den Zeitabschnitten 10—30 Minuten nach Reagenzzusatz, in welcher Zeit die Färbung so gut wie unveränderlich war. Um die Messung schnell zu bewerkstelligen wurden für jede Wellenlänge nur zwei Ablesungen ausgeführt. Sie sind also unsicherer, als die später folgenden, die Abhängigkeit der Lichtabsorption vom Phosphatgehalte bezweckenden und übrigen Messungen und können mit letzteren nicht direkt verglichen werden. Überhaupt war ein Übelstand bei den Untersuchungen, dass direkte Vergleiche nur mit Lösungen angestellt werden konnten, die mit ein und demselben Reagenz am selben Tage und ungefähr nach gleich langen Zeiten nach dem Reagenzzusatze gemessen worden waren. Verschiedene $SnCl_2$-Lösungen gaben z. B., wenngleich sie auch in genau gleicher Weise zubereitet und auch gleich alt waren, stets etwas verschiedene Lichtabsorptionswerte. Die Resultate der Messungen sind in der Tabelle 3 aufgenommen. Fig. 3 stellt die Verhältnisse graphisch dar.

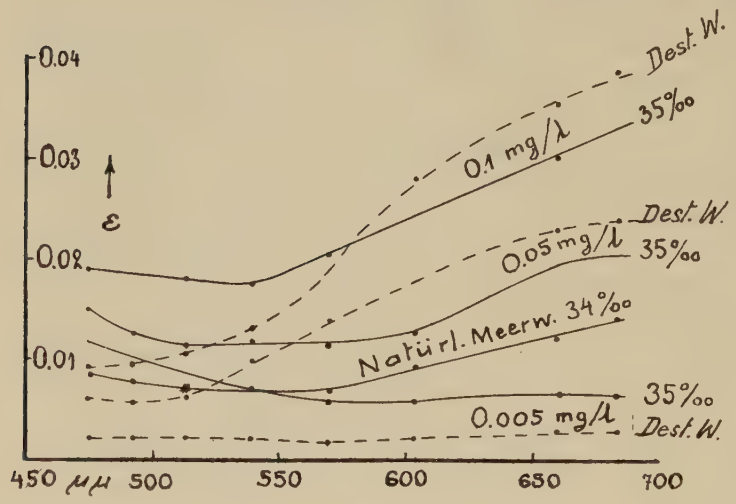


Fig. 3.

Tabelle 3.

Wellenlänge μμ	0.1 mg/l		0.05 mg/l		0.005 mg/l		Natürl. Meerw. 0.095 mg/l
	35 ‰	Dest. H_2O	35 ‰	Dest. H_2O	35 ‰	Dest. H_2O	34 ‰
474	0.0188	0.0092	0.0149	0.0061	0.0117	0.0023	0.0087
492	0.0186	0.0096	0.0127	0.0058	0.0105	0.0021	0.0084
513	0.0182	0.0108	0.0114	0.0063	0.0088	0.0023	0.0075
539	0.0174	0.0134	0.0120	0.0100	0.0072	0.0024	0.0070
570	0.0204	0.0190	0.0118	0.0140	0.0058	0.0016	0.00705
604	0.0248	0.0282	0.0128	0.0179	0.0058	0.0025	0.0095
660	0.0300	0.0352	0.0194	0.0230	0.0067	0.0032	0.0122
684	0.0340	0.0388	0.0206	0.0234	0.0065	0.0031	0.0143

Vergleicht man zunächst die für destilliertes Wasser erhaltenen Absorptionskurven, so findet man ein kontinuierliches Ansteigen von Violet nach Rot mit den niedrigsten

Werten im ersten, und den höchsten im letzten Teil des Spektrums. Die Kurve für 0.005 mg/l verläuft fast horizontal. Diese Lösung hatte einen schwach grauen vielleicht etwas gelblichen Farbton, die beiden anderen waren klarblau. Zur quantitativen Bestimmung des P_2O_5-Gehaltes aus der Lichtabsorption eignete sich also möglichst nahe an der Grenze des sichtbaren Spektrums gelegenes Rot. Hierzu wurde die Wellenlänge 684 $\mu\mu$ gewählt, die schon lichtschwach ist. Da die Lichtabsorptionsänderung mit der Wellenlänge verhältnismässig gering ist, wurde statt dessen mit breiterer Eintrittspalte gearbeitet, ohne von der Unreinheit des Spektrums Ungelegenheiten befürchten zu müssen.

Betrachten wir nun die Spektra der 35,5 $^0/_{00}$-Proben, so finden wir einen vom destillierten Wasser stark abweichenden Verlauf. Die Absorption in Rot ist für die höheren Gehalte niedriger als für destilliertes Wasser. Die Differenz nimmt aber mit abnehmendem Gehalte ab, um bei 0.005 mg/l negativ zu werden, d. h. das salzhaltige Wasser absorbiert hier mehr. Im violetten Teil des Spektrums finden wir ein Ansteigen ins Ultraviolette, welches relativ stärker wird, je niedriger der P_2O_5-Gehalt ist. Dieses ist bedingt durch das Auftreten der auch von den früheren Forschern erwähnten gelben Färbung, deren Entstehen also durch den Salzgehalt stark begünstigt wird, ja so stark, dass dieselbe für die niedrigsten Phosphatgehalte vollständig dominiert. Mit den mir zu Gebote stehenden allerdings nicht ganz zufriedenstellenden Reagenzien konnte ich für das salzhaltige Wasser die Anwesenheit von Blau überhaupt nicht wahrnehmen. Die Lösungen waren rein gelb, sogar auch die mit 0.01 mg/l (hier nicht mitgeteilt), mit 0.05 mg/l gelbgrün und 0.1 mg/l ziemlich blau. Doch fehlte der gelbe Farbstoff auch keineswegs in den Proben mit destilliertem Wasser. Darauf deutet die mit abnehmendem P_2O_5-Gehalte zunehmende Horizontalität im violetten Teil und das Absorptionsminimum in der Mitte des Spektrums für 0.005 mg/l. Auch waren die Lösungen mit den niedrigsten Gehalten nie rein blau, sondern gingen bei Abnahme von P_2O_5 in grün, gelbgrau und für den Phosphatgehalt Null in ganz schwaches gelblich über.

Dieser Umstand, dass sich bei der Gehaltsänderung nicht nur die Farbstoffe sondern auch die Farbnuance ändert, bedingt, dass man für diese Bestimmungen, aus denselben Ursachen wie bei der Ammoniakbestimmung besprochen, kein Kolorimeter anwenden kann, sondern wie dort eine Serie Vergleichslösungen benutzen muss oder auch ein Spektrophotometer. Die Gehaltsfeststellung mit letzterem Instrument geschieht wie beschrieben durch Feststellung der Abhängigkeit der Lichtabsorption für eine zweckmässige Wellenlänge z. B. die erwähnte 684 $\mu\mu$, von dem Phosphatgehalte, Messung der Absorption des Untersuchungswassers bei derselben Wellenlänge und graphische Entnahme des Gehaltes. Diesbezügliche Untersuchungen gaben die im folgenden Abschnitte erwähnten Resultate.

Es wurden zunächst eine Anzahl Phosphatlösungen mit Gehalten von 0.00 bis 0.1 mg/l bereitet und am selben Tage, sowie ein, bzw. zwei Tage noch Bereitung der $SnCl_2$-Lösung spektrophotometriert (Tabelle 4, Reagenz I). Sodann wurde noch eine zweite und eine dritte $SnCl_2$-Lösung bereitet und am Bereitungstage spektrophotometriert. Mit dem dritten Reagenz wurde auch ein 35.5 $^0/_{00}$ Wasser untersucht. Bei allen diesen Messungen wurden die Ablesungen so bewerkstelligt, dass zuerst eine Doppelablesung in jeder Winkelquadrante mit den Rohren in einer Lage geschah, sodann wurden die Rohre ge-

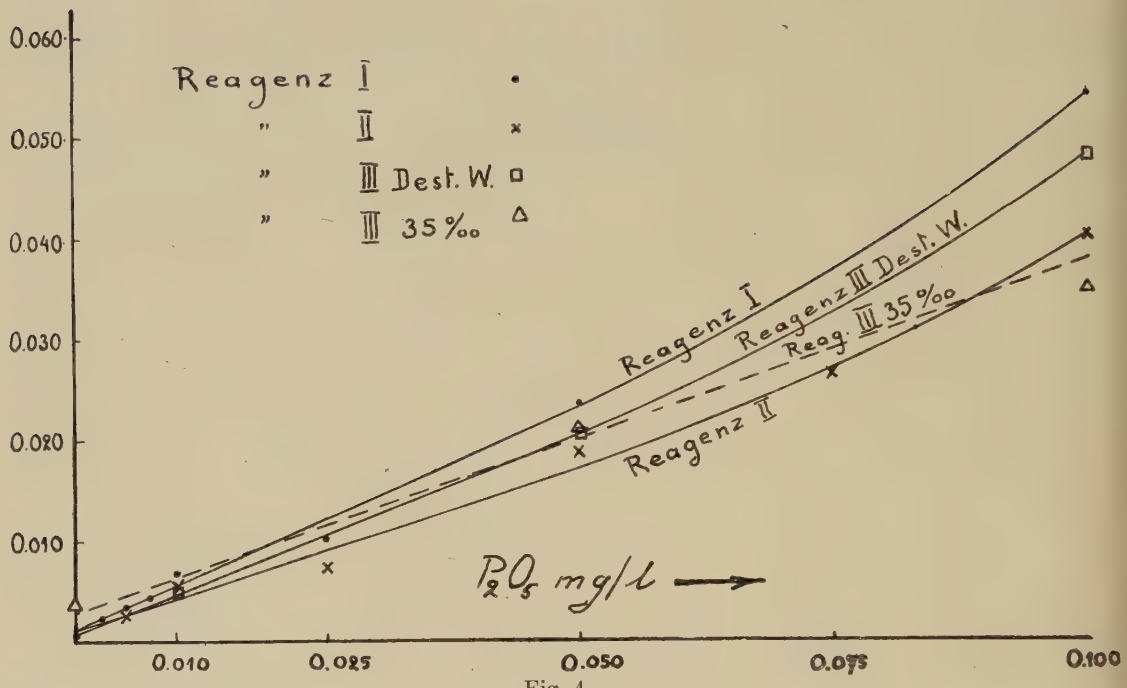


Fig. 4.

wechselt, 2 Serien Doppelablesungen in jeder Quadrante ausgeführt und schliesslich wieder mit den Rohren in der ersten Lage ein Mal in jeder Quadrante abgelesen.

Wie aus der Tabelle und den Kurvenbildern ersichtlich, nehmen die ε-Werte ziem-

Tabelle 4.

P_2O_5 mg/l	Reagenz I			Reagenz II	Reagenz III	
	Dest. Wasser			Dest. Wasser	Dest. Wasser	35 ‰
	Zubereitet: 2. Mai			7. Mai	8. Mai	8. Mai
	Dat. der Messungen					
	2. Mai	3. Mai	4. Mai	7. Mai	8. Mai	8. Mai
0.00	0.0016	..	..	..	0.0012	0.0037
0.0025	0.0022	..	..	..	..	..
0.0050	0.0035	0.0038	..	0.0029	..	..
0.0075	0.0045 0.0044	..	..	..	..	..
0.01	0.0071	0.0056	0.0046	0.0055	0.0055	0.0072
0.025	0.0102	..	..	0.0073	..	..
0.05	0.0233	..	0.0180	0.0187	0.0203	0.0210
0.075	..	0.0292	0.0274	0.0263	..	..
0.1	(0.0541)	0.0456	0.0433	0.0397	0.0474	0.0344

lich linear mit den P_2O_5-Werten zu, vielleicht mit einer bei etwa 0.075 mg/l beginnenden gelinden Krümmung aufwärts. Jedoch ist hier wieder zu bemerken, dass der totale Betrag der Unsicherheit mit dem Gehalte zunimmt, sodass die grösseren Variationen bei den Höchstgehalten auch von zufälligen wahrscheinlich mit dem Dispersitätsgrade des Farbstoffes im Zusammenhang stehenden Ursachen abhängen können. Hierauf deutet auch die Verschiedenheit der ε-Werte bei gleichen Gehalten für die verschiedenen Reagenzien, obgleich letztere in genau gleicher Weise hergestellt wurden. Der Vergleich der am 2., 3. und 4. Mai mit dem Reagenz I gemessenen Wasser weist eine Abnahme der Empfindlichkeit auf, die jedoch nicht sehr augenscheinich ist.

Tabelle 5.

35 ‰ 0.005 mg/l			35 ‰ 0.1 mg/l		
Zeit. Min.	492 $\mu\mu$	684 $\mu\mu$	Zeit. Min.	492 $\mu\mu$	684 $\mu\mu$
1— 4	0.0063	0.0033	1— 4	0.015	0.035
5— 8	0.0086	0.0068	5— 7	0.017	0.034
8—12	0.0095	0.0068	10—25	0.019	0.034
12—15	0.0104	0.0071	30—45	..	0.029
15—30	0.0105	0.0065	50	0.015	..
Dest. W. 0.005 mg/l			Dest. W. 0.1 mg/l		
1— 4	0.0016	0.0026	1— 4	0.0092	0.036
5— 8	0.0017	0.0032	6— 9	0.0102	0.037
9—12	0.0019	..	10—14	0.0098	0.039
12—25	0.0023	0.0031	15—19	0.0096	0.039

Der Einfluss der zwischen Reagenzzusatz und Messung verflossenen Zeit auf die Lichtabsorption geht aus Tab. 5 hervor. Diese Messungen wurden mit zwei Wellenlängen 684 $\mu\mu$ und 492 $\mu\mu$ ausgeführt. Letztere in blau sollte dem Auftreten der gelben Farbe Rechnung tragen. Wie man sieht, ist der Zeitunterschied zwischen dem Erreichen der vollen Stärke der bzw. Farben sehr gering. Im allgemeinen kann man sagen, dass die Farbe sich zwischen 10 und 30 Minuten nach dem Zusatz nicht merklich verändert.

Vergleich des destillierten Wassers mit 35.5 ‰ Wasser ergab für letzteres Wasser eine höhere Absorption mit 0.00 mg/l und niedrigere mit 0.1 mg/l. Der Salzgehalt vermindert also die Empfindlichkeit. Die 35.5 ‰ und 0 ‰ Kurven schneiden sich. Im Schnittpunkt ist also der Salzgehalteinfluss = Null. Dass dieser Schnittpunkt aber bei verschiedenen Gelegenheiten sehr verschiedene Lage haben kann, geht daraus hervor, dass er in Fig. 4 etwa bei 0.05 mg/l gelegen ist, wogegen man ihn aus Fig. 3 aber als bei etwa 0.01 mg/l liegend schätzen kann. Versuche, den Salzgehalteinfluss quantitativ zu bestimmen gaben sehr unsichere Resultate. Im allgemeinen kann man sagen, dass es, wenn es sich um salzreicheres Wasser handelt, in welchem die niedrigeren Phosphatgehalte < 0.01 mg/l mehr oder weniger gelbe Lösungen geben, sehr schwierig ist, kleinere

Gehaltsdifferenzen zu bestimmen. Wenngleich das Spektrophotometer sehr wohl ε-Differenzen abzulesen erlaubt, die Gehaltsdifferenzen von nicht mehr als 0.001 mg/l entsprechen, so erscheinen mir die unkontrollierbaren Fehler doch so gross, dass man für Ozeanwasser und den Reagenzien, mit denen in vorliegender Untersuchung gearbeitet wurde, Gehaltsangaben unter 0.005 mg/l nicht machen kann. Unsicher werden auch die zwischen 0.005—0.01. Von hier aufwärts werden sie zuverlässiger und kann dann auch die zweite Ziffer wohl auf einige Einheiten unsicher sein.

Ist der Totalgehalt an P_2O_5 im Wasser geringer als 0.01 mg/l, könnte man die Resultate mit dem Kunstgriff verbessern, der auch zur NH_3-Bestimmung angewandt wurde, dass man den Untersuchungsproben von vornherein einen gewissen P_2O_5-Gehalt z. B. 0.01 mg/l zusetzt. Da der Phosphatgehalt des Meerwassers sich zufolge der Lebenstätigkeit der Organismen schnell ändert, müssen die Bestimmungen z. B. bei länger dauernden Forschungsfahrten an Bord ausgeführt werden. Nimmt man an, dass die Änderung binnen 24 Stunden unwesentlich ist, könnte man alle in dieser Zeit genommenen Proben auf ein Mal mit Reagenz versehen (das in bezug auf $SnCl_2$ jedenfalls nicht älter als 2 bis 3 Tage sein darf), desgleichen auch eine Serie Standardlösungen, und dann die Bestimmungen innerhalb $^1/_2$ Stunde ausführen.

Für Ozeanwasser müssen die Standardlösungen unbedingt ungefähr denselben Salzgehalt haben wie die Untersuchungswasser. Differenzen von einigen Promille beiderseitig vom Standardwasser werden jedenfalls nicht von Belang sein. Für jeden Salzgehalt eine Standardserie zu haben, ist nicht möglich. Varieren die Salzgehalte sehr stark, mehr als 10 $^0/_{00}$, werden die Resultate entsprechend unsicherer. Für höhere P_2O_5-Gehalte wird die Anbringung einer Korrektur gemäss den aus den Kurven Fig. 3 ersichtlichen Resultaten jedenfalls möglich sein. Um den Salzgehalteinfluss zu vermindern schlägt Atkins Zusatz von Bismarckbraun zu den salzfreien Standardlösungen vor. Dies Verfahren kann aber nicht einwandfrei sein, weil die Absorption des gelben Farbstoffs nicht der P_2O_5-Konzentration proportional ist, sondern bei den niedrigsten Gehalten relativ mehr dominiert. Besser ist Anwendung von ungefähr salzgleichem künstlichen Meerwasser. Die Anwendung des Spektrophotometers an Bord ist auch möglich, nur ist damit die Ungelegenheit verbunden, dass man für jede Messung eine Standardserie abmessen muss und innerhalb $^1/_2$ Stunde für diese eine Kurve entwerfen und sämtliche Wasserproben messen muss, was schwer durchführbar ist. Der Hauptsache nach bestätigen die ausgeführten spektrophotometrischen Messungen die von früheren Forschern gemachten Erfahrungen mit dieser Methode.

Nachtrag.

Nach einer Privatmitteilung von Mr. H. W. Harvey ist das Auftreten der störenden gelben Färbung sehr wesentlich von der Qualität, Zubereitung der Reagenzien sowie Menge des Zusatzes besonders des Zinnchlorurs abhängig. Mit besseren Reagenzien und etwas verändertem Zuwegegehen bei der Präparierung der Untersuchungslösungen hatte er neuerdings bedeutend reinere blaue Färbung erhalten. Von mir späterhin angestellte Versuche mit einem neuen Zinnchlorurpräparat, hergestellt im Laboratorium durch Auflösen von graunliertem Zinn in Salzsäure und Umkristallisieren, von welchem sodann

jeder Probe gemäss der Anweisung von HARVEY ein bis zwei kleine Kristalle in fester Form zugesetzt wurden, ergaben ähnliche Resultate, jedoch ohne dass die Gelbfärbung total zum Verschwinden gebracht werden konnte. Demnach sind den beobachteten Nebeneinflüssen verschiedener Art, die die Messunsicherheit bedingen, zwar engere Grenzen gezogen worden, daraufhin aber das Messverfahren unter Fortlassung einiger der oben für nötig befundenen Vorsichtsmassregeln zu vereinfachen, erscheint mir jedoch noch nicht berechigt.

Summary.

The present report embodies results relating to the methods of analysis used for the determination of ammonia, nitrite nitrogen and albuminoid ammonia, obtained at the Thalassological Institute of Helsingfors.

a) Ammonia. Nessler's reagent was used for the determination of ammonia content, two formulae for the preparation of this reagent being given on p. 44. Since a precipitate is formed on adding Nessler reagent direct to sea water, the latter was formerly distilled (RABEN and others) and the ammonia determined in the distillate. Owing to various sources of error in this method, the results were not sufficiently accurate. In consequence a method was elaborated in which the salts, which form a precipitate with Nessler reagent, were first precipitated. The clear water which is siphoned off or filtered is then treated with Nessler reagent. The reagents used and instructions for their preparation are given on page 38. The concentration of these and the amounts to be added are calculated for $^1/_4$ litre of water having a maximum salinity of 40 ‰. The surplus sodium hydroxide serves the purpose of sterilising the water sample for storage. The possible sources of error are discussed.

The colour given with the Nessler reagent was investigated with the König-Martens spectrophotometer, which is very well adapted to quantitative determinations. The most suitable wave length to be used is about 500 $\mu\mu$.

Table 1 and figure 1 show the relation between absorption of light as determined with the spectrophotometer and ammonia content. The horizontal course of the curve when the ammonia concentration is weakest is remarkable and has been confirmed by many series of observations.

Table 2 and figure 2 show the relation between light absorption and salt content for waters from 0 to 40 ‰ salinity containing 0.1 mg NH^3 per litre. The influence of salt is almost insignificant for waters of higher salinity, 25 ‰ to 35 ‰.

Other governing factors are, the amount of Nessler reagent added, the individual nature of the reagent, temperature, the interval of time between adding the reagent and measuring the light absorption, and the clearness of the water. The influence of these factors can be almost eliminated if they are kept constant.

The measurements are made either by spectrophotometer or by ocular comparison with a series of waters of known ammonia content to which Nessler reagent has been added.

Albuminoid nitrogen. The method of WANKLYN, CHAPMAN and SMITH was used, and by it the nitrogen in known quantities of leucin and tyrosin were quantitatively recovered. Distillation must be used, and the most reliable values are obtained when

at least two samples are distilled in the same apparatus, the NH_3 value of the second and subsequent samples only being used.

Nitrite nitrogen is determined by the Gries-Ilosway method using a solution of sulphanilic acid and α-naphthylamine in acetic acid. The factors influencing the colour, as observed by spectrophotometric measurements, are temperature, time of standing and salt content, the influence of the latter being insignificant. The nitrite content must be determined on board.

Instructions are given for making the determinations and for the collection of samples.

b) The determination of phosphate. Systematic spectrophotometric measurements for the estimation of phosphate by DENIGÈS' coeruleomolybdate method are described, as well as the influence of various factors on the blue colour produced in water containing phosphate after the addition of DENIGÈS' reagents. The solutions of phosphate were prepared by the addition of known amounts of phosphate to distilled water or artificial sea water of composition given on page 45.

Table 3 and figure 3 show the absorption of light throughout the whole visible spectrum for different P_2O_5 contents, both in distilled water, artificial sea water (35 ‰) and in natural sea water (34 ‰). The most suitable part of the spectrum for analytical investigation is at the edge of the red end of the spectrum. Fig. 4 and Table 4 show that the absorption of light measured at 684 μμ runs more or less parallel with the phosphate content, but that reagents of different age and prepared in different ways give quite different curves. Table 5 gives the influence of the time elapsing between the addition of the reagent and the colour measurement, according to which the measurement must be made within the limits of 5 and 30 minutes after the addition. In the case of the weakest concentrations of phosphate (less than .01 mg P_2O_5 per litre) a yellow coloration was always observed covering the blue. According to information received from Mr. H.W. HARVEY this depends very largely on the amount of stannuous chloride used, of which as little as possible should be added.

III. Quelques observations aux thèmes: Méthodes pour l'étude des phosphates et des matières azotées dans l'eau de mer.

Par

Prof. **J. Giral.**

Méthodes pour l'étude des phosphates dans l'eau de mer.

Le phosphore se trouve à l'état de combinaisons diverses dans l'eau de mer; il aut signaler d'abord, la plus importante, c'est le phosphore inorganique ou acide hosphorique (plutôt les phosphates); ces phosphates sont pour la plupart des sels alcalins t, pourtant, solubles; peut-être il y a aussi des phosphates insolubles ou en dissolution olloidale; l'existence d'aucune autre forme de phosphore inorganique (phosphites p. e.) 'est pas démontré. Le phosphore organique c'est ce qui se trouve dans les complexes olecules albuminoides, et aussi dans les phospholipines ou phosphatides (lecithines, ephaline etc.) à l'état d'acide phosphorique conjugué avec de la choline et qui est facilement dégagé par hydrolyse; tout le phosphore organique se trouve dans des composés nsolubles. — Le phosphore total n'est que la somme des deux formes citées.

Le plankton a une influence remarquable sur les quantités relatives du phosphore norganique et organique; tantôt c'est le premier qui augment et le second qui diminue plankton mort), tantôt il arrive tout le contraire (plankton vivant). — L'addition d'antiptiques arrête ces transformations réciproques. — La filtration permet de doser séarément les deux formes. — Aussi on peut doser une des deux formes (le phosphore organique d'habitude, parcequ'il est plus facile) et le phosphore total; on trouve l'autre rme (le phosphore organique) par le calcul. — Toutes les méthodes utilisées pour doser phosphore inorganique peuvent s'appliquer au phosphore total; il suffit de pratiquer n traitement préalable avec des acides énergiques et oxydants pour détruire le composé sphoré organique et transformer son phosphore en acide phosphorique. — Pourtant, st le dosage du phosphore inorganique qui est important.

Dans les eaux potables, minérales ou de mer, les déterminations quantitatives s phosphates sont toujours difficiles et très longues à cause des très petites quantités istantes; c'est pour cela qu'on repousse les méthodes gravimétriques et on donne la

préférence aux méthodes volumétriques, et surtout, a celles colorimétriques ou néphélométriques.

Les méthodes gravimétriques appliquées à l'eau de mer, sont basées sur la précipitation préalable des phosphates avec du chlorure ferrique, dissolution azotique du précipité et reprécipitation à l'état de phosphomolybdate de barium; c'est la méthode de Riegler (1), Posternak (2), employée par Raben (3) et par Brandt (Kiel); le précipité final entraîne toujours des quantités d'acide molybdique ce qui fausse les résultats; aussi, les arsenites sont oxydés en arseniates et précipités avec les phosphates; une partie du phosphore organique est encore oxydée par l'acide nitrique, et précipitée à l'état d'acide phosphorique; tous ces désavantages font augmenter les chiffres finaux.

A vrai dire il n'y a qu'une méthode volumétrique qui soit appliquée au dosage des phosphates dans les eaux; elle est pratiquée dans quelques nations pour l'analyse des eaux potables (l'Amérique du Nord p. e.; la méthode est suivie par l'»Association of official Agricultural Chemists« (4)); c'est la méthode de Pemberton—Neumann (5), qui consiste à dissoudre dans un volume connu de liquide alcalin titré, le précipité de phosphomolybdate d'ammonium obtenu avec les phosphates solubles de l'eau; et à retitrer l'alcali en excès. — Cette méthode est peu sensible pour les minimes quantités des phosphates de l'eau de mer.

Les méthodes colorimétriques ont été empruntées à la Biochimie parceque dans cette science on est très souvent dans le cas de doser des quantités ultramilligrammatiques de phosphore dans des produits physiologiques et pathologiques divers. — Les deux méthodes fondamentales modernes sont celle de Pouget—Chouchak (6) (1911) et celle de Denigès (7) (1920). — La première est basée sur la grande insolubilité du phosphomolybdate de strychnine; la solution azotique de la substance est évaporée à sec au B-M et le résidu repris par l'acide azotique; on ajoute le nitromolybdate de strychnine et on compare avec un type ou étalon le louche opalescent dont l'intensité augmente avec le temps, et la teinte jaune brun d'autant plus foncée que l'opalescence est plus intense; la précipitation est faite à froid et, pourtant, on n'a pas à craindre l'hydrolyse de l'acide complexe des phosphatides. Pour faire disparaître l'arsenic dont la présence gêne le titrage (l'acide arsenique ne donne pas de précipité mais sa présence gêne), et aussi le fer, il faut précipiter par adjonction d'une solution ferrique et ce précipité est dissous, ensuite, dans l'acide azotique; c'est cela qu'il faut faire dans le cas des eaux de mer. Cette méthode a été employée par Matthews (8) dans les analyses océanographiques avec emploi du colorimètre; et aussi par Bloor (9) (1921) pour doser le phosphore inorganique du sang avec l'emploi du néphélomètre. — Terada (10) (1924) introduit une modification; le phosphomolybdate de strychnine est lavé à l'acide azotique, centrifugé et dissous dans une solution de carbonate de soude avec adjonction d'une solution de phenylhydracine qui, par chauffage au B-M à 70—80° C, développe une coloration rouge vive laquelle est comparée colorimétriquement avec une solution phosphorée étalon. — Tisdall (11) (1922) réduit le phosphomolybdate de strychnine (recueilli et centrifugé) par le ferrocyanure et l'acide chlorhydrique, jusqu'à coloration verte laquelle est comparée comme ci-dessus; les ions Na, Ca, Mg n'ont pas d'influence.

La méthode, dite ceruleomolybdique, de Denigès, est basée sur la précipitation du phosphore inorganique à l'état de phosphomolybdate ammoniaque et sur la réduction de ce précipité pour obtenir une coloration bleue laquelle est comparée au colorimètre avec celle produite par une dissolution type de phosphate monopotassique (0.05 milligrammes d'anhydride phosphorique par litre). — L'auteur de la méthode emploie du chlorure stanneux pour faire la réduction, et il dit qu'elle n'atteint que l'acide phosphomolybdique et non à l'acide molybdique. Cette méthode a été employée par Atkins (12) (1923), qui la trouve excellente, dans l'analyse de beaucoup des échantillons d'eau de mer; le titre de la dissolution étalon descend de 1 % pour chaque heure et il faut la préparer récente; les arseniates produisent aussi une réduction avec coloration bleue; et aussi les silicates, mais s'ils sont présents en quantité supérieure à 0.1 gr pour litre ce qui n'arrive jamais dans l'eau de mer. Pour prévenir la formation d'un louche gênant il faut toujours ajouter à l'échantillon, d'abord le molybdate d'ammonium et ensuite le chlorure stanneux; si, malgré cela, on produit une coloration jaune au lieu de bleue, il faut ajouter une trace de brun Bismarck. La sensibilité de la méthode est calculée en 0.003 à 0.001 milligramme de P_2O_5 par litre; chaque dosage met 10 minutes et il n'est pas nécessaire de filtrer de l'eau, le plankton en suspension étant sans influence.

Cette méthode de Denigès était déjà employée en Chimie Biologique pour le dosage du phosphore inorganique et total dans le sérum de sang; c'était la méthode de Taylor (13) et Miller suivant laquelle on faisait la précipitation phosphomolybdique et le précipité recueilli était réduit par la phenylhydrazine; mais quelque temps après Bell et Doisy (14) (1920) démontrèrent qu'il ne faut pas la précipitation préalable parce que les agents réducteurs agissent seulement sur l'acide phosphomolybdique bien qu'il soit en présence de l'acide molybdique en excès, lequel y reste inaltérable; ils emploient de l'hydrochinone et du bisulfite de soude, comme réducteurs; cette méthode, et la modification de Briggs (15), sont très connues dans la technique analytique des produits physiologiques; et elle a été aussi, très employée dans l'analyse des sols par Yamamoto (16) (1922) lequel démontre que les nitrites, nitrates, chlorures et sulfates n'ont pas d'influence, mais qu'il faut éviter les ions Fe et Al. — Fiske (17), Subbarow et Guerrant (18) emploient comme réducteur pour obtenir la teinte bleue, de l'acide 1—2—4 aminonaphtosulfonique; et Losana (19) (1922) emploie tout simplement de l'hyposulfite de sodium avec chauffage au B-M (10 minutes à 80° C). — D'autre part Thornton (20) (1923) dissout le phosphomolybdate d'ammonium dans l'ammoniaque et, après, on fait la réduction avec du zinc et l'acide chlorhydrique (en dehors du contact de l'air), pour obtenir du trichlorure de molybdène dont le dosage est fait avec une solution titrée du bleu de methylène (oxydation à pentachlorure et décoloration du bleu). — Florentin (21) (1921) a employé la méthode classique de Denigès au dosage du phosphore dans les eaux potables, mais la colorimétrie finale est faite par comparaison avec une solution de carmin d'indigo. — Il faut remarquer encore la méthode de Fontès et Thivolle (22) (1923) appelée par ses auteurs »Molybdomanganimetrie«; au lieu de faire une colorimetrie comparative avec de la matière bleue produite par réduction du phosphomolybdate, elle

est dosée avec une dissolution titrée de permanganate de potassium jusqu'à décoloration et teinte finale rose.

Svanberg, Sjøberg et Zimmerlund (23) (1922) arrivent à une autre méthode sensible au 0.05 milligrammes avec une erreur de 3 %; le précipité de phosphomolybdate d'ammonium, dont la composition répond à la formule: $PO_4 (NH_4)_3$, 12 MoO_3, est recueilli et son nitrogène dosé par un micro Kjeldahl, volumétriquement à l'état d'ammoniaque sur l'acide sulfurique titré et l'excès avec du iodure et iodate potassique, et finalement avec de l'hyposulfite normal.

Nous pourrions continuer ce court exposé; mais il est suffisant pour démontrer combien il y a de méthodes différentes, sensibles, rapides et sûres qui peuvent avoir application pour le dosage du phosphore dans l'eau de mer. Le chimiste océanographe est à présent dans un véritable embarras du choix et je crois qu'il sera très intéressant et, peut-être, indispensable, d'étudier dans les principales méthodes, et avant de choisir celle qui pourrait devenir unique ou internationale:

1 L'influence des combinaisons phosphorées autres que les phosphates.
2 L'influence des combinaisons de l'arsénic, du silicium et de l'azote.
3 L'influence du plankton.
4 L'influence des agents antiseptiques employés pour tuer le plankton.
5 S'il sera convenable de filtrer les échantillons d'eau de mer qui ne soint pas soumies à l'analyse tout récemment prise.
6 S'il est préférable d'ajouter un agent conservateur ou antiseptique au lieu de filtrer de l'eau.

Méthodes pour l'étude des combinaisons de l'azote dans l'eau de mer.

Pour résoudre le problème, si important et si difficile, de la détermination dans l'eau de mer des divers composés azotés, il faut établir d'une manière précise les termes de la question et les relations qu'ils ont avec d'autres problèmes préalables et secondaires; connaître un problème c'est avoir parcouru la moitié du chemin pour le résoudre. — D'abord il faudra préciser lesquelles sont les combinaisons du nitrogène qui peuvent se trouver dans l'eau de mer (quelquefois aussi, avec sa définition); quelles sont celles qui se recherchent et dosent par les méthodes d'analyse; quelle est l'influence de certains corps dissous ou en suspension, sur les résultats de l'analyse et sur la quantité, et même sur l'existence des dits composés azotés; la façon de parer aux difficultés de chimie analytique causées par cette influence. Ensuite, on doit faire une étude critique des principales méthodes d'analyse chimique; et, en fin, on doit tenter d'établir une méthode unique de détermination pour chaque substance azotée, pour que les résultats soient toujours comparables; maintenant, on doit consigner toujours la méthode employée et faire des analyses comparatives avec d'autres méthodes.

Pour avoir une vue d'ensemble de toutes ces questions, je me suis permis de les classer suivant ce tableau schématique:

Méthodes d'analyse chimique couramment employées

Nitrogène libre	Méthodes gaz-volumétriques.
Nitrogène ammoniacal	Distillation avec une base et colorimétrie du distillat avec le Reactif Nessler. Dosage direct (sans distillation) colorimétrique avec le Reactif Nessler. WITTING. Détermination gaz-volumétrique du nitrogène détachée par l'hypobromite de sodium. GAD-ANDRESEN.
Nitrogène nitreux	Dosage colorimétrique direct avec des iodures et de l'empois d'amidon. Dosage colorimétrique direct avec de l'α-naftylamine et de l'acide sulfanalique. GRIESS-YLOSVAY. Reduction (Fe et SO_4H_2. — Amalgames de Na et de Al. — Alliage Devarda etc.) pour passer à ammoniaque et dosage colorimétrique de celui ci. Réduction jusqu'à ammoniaque et dosage gaz-volumétrique du nitrogène de ce gaz.
Nitrogène nitrique	Détermination colorimétrique avec de la brucine. — — — acide phenolsulfonique. — — — de la strychnine réduite. Détermination gaz-volumétrique du NO détaché avec ClH et Cl_2Fe. Réduction à NH_3 et dosage colorimétrique avec Nessler. — — — gaz-volumétrique du N. Par différence entre N total et N ammoniacal.
Nitrogène albuminoide	Distillation avec MnO_4K et alcali, et dosage colorimétrique de NH_3 produit avec le Reactif Nessler. Item item et dosage gas-volumétrique du N de NH_3. Distillation avec persulfate et dosage colorimétrique du NH_3 avec R. Nessler.
Nitrogène total	Par voie sèche. — Combustion du résidu salin de l'eau. Par voie humide sur le résidu. — KJELDAHL. Par voie sèche sur le résidu. — DUMAS. Par addition de tous les autres nitrogènes.
Matière organique oxydabilité.	Volumétrique avec MnO_4K en milieu alcalin. Item mais avec élimination préalable des chlorures. Item mais avec addition de SO_4Mn. Item mais avec détermination du chlore détache.
Expression des résultats analytiques.	Nitrogène (libre, ammoniacal, nitreux, nitrique, albuminoide, total etc): c/c par litre ou par kgr. — grammes par litre ou par kilogramme. Nitrogène ammoniacal ou ammoniaque; en volume ou en poids. Nitrogène nitreux ou anhydride ou acide nitreux; item item. Nitrogène nitrique ou anhydride ou acide nitrique; item item. Nitrogène albuminoide ou ammoniaque albuminoide; item item. Oxygène en volume ou en poids pour la matière organique. — Quantité de MnO_4K employé. Relations entre les chiffres de chacune des formes du nitrogène; entr'elles et avec celles d'oxygène, carbone etc.

Schème pour l'étude des corps azotés de l'eau de mer.

- Corps azotés existants dans l'eau de mer.
  - Formes sous lesquelles ils se trouvent; on dose le nitrogène à l'état de
    - Nitrogène libre dissous.
    - Nitrogène de NH_3 et de ses sels.
    - Nitrogène de NO_2H et de nitrite.
    - Nitrogène de NO_3H et nitrates.
    - Nitrogène des albuminoides.
    - Nitrogène total.
    - Matière organique.
  - Formes sous lesquelles ils se trouvent; on ne dose pas le nitrogène.
    - Amines. — Amides. — Urées et ureide.
    - Bases puriques, pirimidiques etc.
    - Amino-acides et polipeptides.
    - Composés sulfonitrogenés divers.
  - Définitions des formes sous lesquelles on dose le nitrogène.

- Corps en suspension ou dissous qui peuvent influencer l'existence. Qualité. — Analyse. — Des combinaisons azotés de l'eau de mer.
  - En suspension.
    - Vivants
      - Phytoplankton
      - Zooplankton.
    - Morts
      - Etres ou parts d'êtres.
      - Excrétions et excrement.
      - Principes immédiats.
  - En dissolution parfaite ou colloidale.
    - Corps azotés non dosés.
      - Peptones, polipeptides, amino-acides, amines biogénes et de putréfaction urées, ureides etc.
    - Corps organiques non azotés.
      - Hydrates de carbone.
      - Pigments divers.
      - Matières grasses.
      - Sels minéraux.
    - Corps azotés dosés
      - Nitrites sur nitrates.
      - Albumines sur ammoniaque.
  - Réactifs ou antiseptiques ajoutés: Cl_2 Hg etc.
  - Façon de cette influence et classe des corps azotés sur lesquels elle s'exerce.

- Moyens divers de parer à ces influences.
  - Antiseptiques et poisons de l'activité du plankton Cl_2Hg. — SO_2. — Cl. — etc.
  - Emploi des eaux vives récentes.
  - Filtration et ultrafiltration.
  - Divers. — Précipitations des chlorures, addition de SO_4Mn. etc. pour la détermination de la matière organique.
  - Destruction de la forme empêchante. —
  - Nitrites pour doser des nitrates etc.

1) Formes sous lesquelles se trouve l'azote dans l'eau de mer. Les matières nitrogenées qui peuvent exister dans l'eau de mer constituent un ensemble assez complexe de corps de composition et de constitution chimiques variées et, aussi, dans des états divers d'agrégation moléculaire. Si on remarque que la matière vivante existant dans les océans dépasse surement de 10^{14} tonnes, que cette matière est toujours en transformation chimique et physique continuelles, que ces transformations interessent à la matière vivant aussi bien que morte et quelles sont aussi de nature énormement différente (hydrolyse, saponification, oxydation, réduction, coagulation, dissociation etc), on pourra se rendre compte de la diversité d'espèces chimiques qui existent dans l'eau

de mer. Le métabolisme cellulaire, incessamment renouvelé, les fermentations nitrifiantes et dénitrifiantes, et les phénomènes de putréfaction, sont les origines de tout ce ensemble de produits azotés. — Parmi ces corps il y en a dont le dosage est pratiqué habituellement, bien que leur composition chimique soit connue ou bien qu'elle soit inconnue; à signaler l'azote libre dissous, l'ammoniaque libre et salifié, l'acide nitreux et les nitrites, l'acide azotique et les nitrates, le nitrogène albuminoide, l'azote total et, aussi, ce qu'on appelle d'une façon pleine d'incertitude, »matière organique«. Mais il ne faut pas oublier qu'il y a encore une véritable foule de composés azotés dont la détermination quantitative, même l'investigation qualitative, n'est pas faite pour les techniciens océanographes (et pour les chimistes chercheurs spéculatifs, non plus); c'est que nous n'avons pas encore de méthodes d'identification et d'analyse qui soient sures, simples et sensibles pour déceler ces substances qui se trouvent mélangées dans de très petites quantités dans l'eau de mer; malgré cela nous savons quelles sont ces matières et nous devons connaître l'influence qui peuvent exercer sur les autres combinaisons azotées dosables. Toutes les substances originées par les métamorphoses régressives et par les phénomènes de fermentation et de putréfaction, se trouvent dans ce groupe: polypeptides, amino-acides, bases puriques et pyrimidiques, amines, amides, urées, ureides etc. Leur présence gêne et, parfois, empêche la détermination des forme dosables de l'azote, comme nous verrons tout à l'heure.

Il faut encore faire attention au concept très peu clair qu'on a de ce qu'il convient d'entendre par nitrogène albuminoide et par matière organique (les autres combinaisons azotées ont une définition précise). La dénomination d'azote albuminoide doit désigner exclusivement le nitrogène provenant des substances proteïques totales qui se trouvent en dissolution ou en suspension dans l'eau de mer; mais la méthode suivie pour sa détermination est basée sur l'oxydation de ces matières par le permanganate de potassium en mileu alcalin, et il est bien connu que cette oxydation n'est pas complète dans bien des cas des albuminoides; en revanche, il y a d'autres substances (la plupart des corps originés dans le métabolisme intermédiaire et final des proteïques) qui peuvent donner de l'ammoniaque par l'action de ce réactif oxydant; pourtant il y aura une erreur par excès et une autre par défaut. Il vaudra mieux changer la dénomination »Azote albuminoide« par »Azote organique« bien que cette dernière manque encore de précision. — D'autre part, ce qu'on appelle »Matière organique« est un mélange complexe, de proportions inconnues, d'innombrables espèces chimiques dont l'identification ne peut être non plus pratiquée; certaines de ces espèces sont azotées. La matière organique s'exprime habituellement par la quantité de réactif (MnO_4K) consumé ou par l'oxygène équivalent; mais beaucoup des corps qui la constituent échappent à l'action du réactif ou agissent différemment selon leur constitution ou les transformations qui subit l'eau, après qu'elle a été captée. Je crois qu'il faut établir aussi une définition claire et précise, de »Matière organique« et qu'on doit substituer cette dénomination par celles de »Indice de permanganate« ou »Oxydabilité« comme on fait déjà dans certains pays (Suisse, Amérique du Nord etc.).

2) — Corps en suspension ou en dissolution dans l'eau de mer qui peuvent influencer l'existence, la qualité ou la quantité des substances azotées qui y sont présentes. — D'abord il faut remarquer au premier rang, le plank-

ton; l'influence a été signalée par divers investigateurs, mais elle a été aussi l'objet de diverses discussions. Il semble que les différences des quantités de l'azote ammoniacal et nitrique dans des eaux vives et dans des eaux mortes par le chlorure mercurique, sont si petites qu'on pense que le plankton n'a aucune influence (Raben) (24); en revanche, Gebbing (25) n'est pas du même avis; Harvey (26) trouve que la méthode de dosage des nitrates par la strychnine réduite n'est pas applicable pour les eaux qui sont riches en plankton; Nathansohn (27) fait remarquer que les quantités trouvées d'azote albuminoide dans des échantillons d'eau de mer, filtrées au préalable ou non filtrées, sont à peu près les mêmes et, pourtant, le plankton n'y a pas d'influence. Les variations dans le pourcentage des nitrites des échantillons gardés pendant quelques mois dans des endroits obscurs, ont été démontrées par Natterer (28), Buch (29) etc. Mais le plankton est un ensemble d'êtres dont les phénomènes vitaux doivent, sûrement, faire changer la qualité et la quantité de tous les composés azotés du milieu où ils se trouvent; il y a de phytoplankton qui est capable de fixer l'azote libre dissous et de le changer en N. albuminoïde; il y a des bactéries nitrosifiantes et nitrifiantes qui changent le nitrogène ammoniacal en nitreux ou nitrique; on trouve des bactéries dénitrifiantes qui font l'effet contraire; il faut ajouter encore l'action de certains catalyseurs et des rayons ultraviolets; et, dernièrement, les organismes morts, ses principes immédiats, les excrétions et excréments, les produits divers des métamorphoses, ont toujours des matières azotées qui peuvent souffrir des oxydations et des réductions, des hydrolyses et des condensations etc., pour produire toutes les formes de nitrogène qui sont dosifiables.

L'influence du plankton est évidente bien que quelquefois les méthodes d'analyse ne soient pas assez sensibles pour déceler cette influence. Mais à côté du plankton il y a encore dans l'eau de mer, nombre de composés divers en dissolution; quelques sont des corps azotés déjà mentionnés, dont le dosage n'est pas pratiqué d'habitude mais dont l'influence sur le dosage des autres est bien claire. Le réactif Nessler décèle l'azote de l'ammoniaque et de ses sels et aussi l'azote des amines biogènes et de la putréfaction; la distillation préalable avec une base produit aussi de l'ammoniaque avec des urées, uréides et amides. L'hypobromite de sodium employé dans la méthode de Gad-Andresen (30) laisse libre l'azote de l'ammoniaque mais aussi des urées, amines, amides, bases puriques, certains aminoacides etc. Le permanganate de potassium ne libère pas tout l'azote à l'état d'ammoniaque des albuminoides (Nathansohn (27) dit que seulement la moitié est libérée) mais en revanche il oxyde totalement certains amino-acides tandis que d'autres (Tyrosine selon Preuse et Tiemann) ne laissent libre que 82 % de son nitrogène. D'autres composés non azotés peuvent aussi exercer une réduction sur les nitrates et les nitrites (certains carbohydrates, la matière organique etc.) ou sur les réactifs, comme celui de Nessler qui est réduit par les corps oxhydrilés, empêchant les observations colorimétriques. — Les sels minéraux de l'eau de mer ne sont pas non plus sans influence; Brandt (31) démontre que la teinte de la couleur change avec la salinité dans les cas des déterminations colorimétriques des nitrates par la méthode à la strychnine réduite; Ringer (32) et Klingen ont trouvé des chiffres trop hautes pour l'azote ammoniacal dans les eaux de salinité faible; l'influence des chlorures sur les déterminations (au permanganate) de la matière organique est bien connue aussi (33).

Il faut encore remarquer l'influence d'un corps azoté dosable sur un autre; si on a un nitrite dans un milieu acide, une certaine partie est transformée en acide azotique; si on fait une filtration par papier de l'eau de mer, le papier cède ou laisse toujours de petites quantités d'acide nitreux et d'acide nitrique (34); si on fait une concentration par évaporation de l'eau au contact de l'air atmosphérique, il suffit de l'alcalinité de la porcelaine de la capsule pour que de l'azote de l'air soit fixé à l'état de nitrite; si on a des nitrites à côté des nitrates il est presqu'impossible de déceler ces derniers.

Les antiseptiques employés pour tuer le plankton et les réactifs mêmes qui sont ajoutés à l'eau de mer en vue de son analyse, ont aussi une influence remarquable sur les combinaisons azotées qu'on veut doser. L'adjonction du chlorure mercurique gêne la détermination des nitrites et des nitrates par les méthodes qui changent ces corps en ammoniaque; ce sel est capable de s'unir à l'ammoniaque pour founir des combinaisons inaltérables pour distillation, même avec de l'hydrate de potassium; et, aussi, le chlorure mercurique est un catalysateur dont l'action sur les corps azotés fait que les chiffres trouvés pour les acides nitreux et nitriques sont toujours très hauts (Raben, Buch, Gad-Andresen). — L'anhydride sulphureux employé par ces derniers savants, se transforme, par dissociation, et produit de l'acide sulfurique lequel change les nitrites en acide nitrique et oxyde nitrique (Orr) (35).

3) Moyens divers de parer à ces influences. — L'activité gênant du plankton est annihilée par l'addition de certains antiseptiques ou poisons; le chlorure mercurique et l'anhydride sulphureux sont les plus employés; nous venons de voir leurs désavantages. Mais je crois qu'on doit en essayer quelques autres; je fais actuellement des recherches pour le chlore et les hypoclorites; un milligramme de chlore actif par litre d'eau suffit pour tuer tous les microorganismes qui peuvent s'y trouver; cette si petite quantité n'aura pas d'influence sur les dosages de l'ammoniaque et des acides nitreux et nitriques. Peut-être aussi le fluorure d'argent, le phénol, le formol etc. pourriont servir à ce sujet-ci.

La conservation des échantillons d'eau de mer dans l'obscurité ou dans des flacons en verre jaune ne semble pas être un moyen efficace pour parer à l'influence du plankton vivant. En tout cas, l'analyse de l'eau de mer récemment captée sera, peut-être, le moyen le plus sûr.

L'empoisonnement ou la mort du plankton n'évite pas l'influence des innombrables composés, azotés ou non, qui se trouvent dans l'eau de mer ou qui peuvent prendre naissance du même plankton mort. La séparation de ceux qui sont insolubles peut être faite par filtration; j'ai fait des expériences avec diverses substances filtrantes au point de vue de la détermination de la matière organique (33), et je puis affirmer l'influence décisive de la matière employée pour la filtration; les plus petits organismes du microplankton (bactéries et diathomées) dont la grandeur de la cellule est à peu près de 2—3 micras, sont certainement arrêtés par des ultrafiltres en collodion dont le diamètre des pores est de 16 micromicres; les filtres en papier Durieux no. 126 et 130 arrêtent déjà toutes les particules, micelles ou cellules dont le diamètre est supérieur à 2 micras; il en est, du reste, de même pour les bougies Chamberland. Toutes les combinaisons solubles azotées où on fait des déterminations d'azote (ammoniacal, nitreux, nitrique) passent à travers

ces filtres et je crois qu'on doit tenter d'essayer si la filtration sera le moyen le plus sûr pour éliminer le plankton; si ce n'est pas le cas on pourra établir que toutes les analyses de l'eau de mer seront faits toujours après filtration du liquide.

L'influence gênante de certains sels, surtout du chlorure de sodium, dans les déterminations de la matière organique, a exigé, d'autre part, des modifications spéciales (lorsqu'il s'agit des eaux de mer) des méthodes de dosage au permanganate; il ne suffit pas de procéder en milieu alcalin parce qu'alors, l'oxydation est très incomplète et on aperçoit très mal la teinte finale; c'est ce qui arrive aussi si on veut remplacer l'acide sulfurique par un autre plus faible et on fait l'oxydation à température basse (l'acide phosphorique p. e.); l'élimination préalable des chlorures est un procédé très coûteux et très lent, et aussi inexact parce que le précipité de chlorure d'argent produit retient beaucoup de la matière organique dissoute ou en suspension; si on veut doser à part le chlore dégagé par le permanganate, pour en tenir compte, la méthode devient peu pratique; j'ai essayé l'addition de sulfate manganeux (1 % de l'eau) (33) et j'ai pu assurer qu'avec cette simple modification de la méthode classique au permanganate en milieu acide, disparaîssent toutes les actions de perturbation que la présence des chlorures peut exercer; on trouve la cause de la régulation qui fait le sulfate manganeux dans les théories modernes de l'oxydation, ce sel étant un accepteur énergique.

L'influence que certains corps nitrogénés à doser exercent sur d'autres dosables aussi, a été déjà exposée. On peut parer à cette difficulté par la destruction du corps gênant. Il est impossible de faire un dosage exact de nitrates en présence de nitrites, mais, en tout cas, on peut séparer ceux-ci par une distillation simple avec de l'acide acétique, les nitrites passant au distillat et les nitrates y restant; l'élimination des nitrites est obtenue par l'urée et l'acide sulphurique à froid ou, aussi, par l'hydrazine; je ne crois pas que ces méthodes aient été essayées dans le cas des eaux de mer. Peut-être, aussi, on pourra arriver à obtenir une élimination complète des produits azotés du métabolisme intermédiaire des albuminoides par l'emploi de l'acide phosphomolybdique qui est un agent de précipitation de tous ces corps-ci. Pour le dosage de ce que l'on appelle »Azote albuminoide« il faudra tenter aussi l'emploi d'un réactif oxydant qui soit plus énergique que le permanganate, pour avoir ainsi la sûreté d'une oxydation complète des matières protéiques jusqu'au terme d'ammoniaque; les persulfates alcalins ont été déjà proposés par Winkler.

4) Les méthodes d'analyses couramment employées. — Pour la détermination de l'azote libre dissous dans l'eau de mer, la méthode de choix est celle gaz-volumétrique; les variations se rapportent aux moyens de captation des gaz. L'emploi d'appareils du type Pettersson ou du type du manomètre différentiel de Barcroft sont à recommander. On ne doit pas oublier qu'il est préférable de travailler avec des échantillons récemment captées pour éviter des pertes du gaz dissous par des variations de la température et de la pression; et, aussi, parce qu'il est bien démontré que les algues peuvent fixer du nitrogène libre (36), surtout à la lumière, ce qui fera diminuer la quantité réelle de ce gaz dissous. L'emploi des antiseptiques pour tuer le plankton n'est pas encore pratiqué, à notre connaissance, mais on devrait le faire; il semble que l'addition de ces poisons tuera le plankton et n'empêchera pas la détermination de l'azote libre.

La méthode la plus suivie pour doser l'azote ammoniacal, s'il s'agit des eaux po-

tables ou des eaux de mer, est fondée dans la distillation avec une base, pour détacher l'ammoniaque lequel est déterminé colorimétriquement, dans le distillat, avec le réactif Nessler et par comparaison avec une solution étalon. La concentration préalable de l'eau par évaporation n'est pas à recommander à cause des pertes considérables d'ammoniaque qu'elle entraîne. L'hydrate métallique employé est l'hydrate magnésique et, quelquefois, un hydrate alcalin ou un carbonate; la technique opératoire à suivre est celle de Chapmann, Smith et Wanklyn avec la cornue de ce dernier auteur; la détermination colorimétrique est faite dans des tubes à essai, ou mieux, dans des éprouvettes de Hehner; la comparaison est faite avec des solutions de chlorure d'ammonium (3.14 grs par litre). Il faut remarquer que l'azote dégagé à l'état d'ammoniaque dans cette méthode provient non seulement de l'ammoniaque et de ses sels, mais aussi des amines diverses, urées, certains amino-acides etc.; l'emploi de la magnésie est préférable à celui des alcalis, dans ce cas. Il y a aussi bien des substances qui peuvent produire des colorations avec du réactif Nessler et qui ne sont pas des composés ammoniacaux (Raben) (24). La stérilisation de l'eau par l'addition de chlorure mercurique n'est pas sans inconvénients parce que l'ammoniaque forme, avec cette sel, des combinaisons très résistantes, même à l'action des alcalis, et, pourtant, cet ammoniaque ainsi fixé, ne passera pas au distillat et on trouvera des chiffres trop bas pour l'azote (Raben (24) et Buch (29)); en outre, le chlorure mercurique est capable de favoriser la transformation de l'ammoniaque en acide nitreux, le sel est alors reduit et les produits passent au distillat et troublent l'observation colorimétrique postérieure. En outre, toutes les déterminations colorimétriques ont des causes d'erreur subjectives et objectives; parfois, avec ces grandes dilutions auxquelles il faut arriver, les teintes finales sont verdâtres et gênent beaucoup les observations. — Il est convenable aussi de procéder à une température fixe et d'étudier l'influence de la salinité. L'emploi des colorimètres et des spectrophotomètres ou spectrocolorimètres fera gagner en sensibilité et précision la méthode. S'il s'agit des eaux qui contiennent des sulphures on procède à leur élimination par ébullition préalable de l'eau avec de l'acide sulfurique à 5 %, mais on risque de perdre l'azote nitreux ou nitrique. — On a essayé de faire la détermination colorimétrique avec le réactif Nessler directement dans l'échantillon d'eau de mer (Witting) (37) après avoir précipité les ions qui gênent cette observation (SO_4, Ca, Mg); il semble que l'addition d'un antiseptique n'est pas nécessaire pour tuer la plankton, puisque les mêmes réactifs ajoutés suffisent; mais il faut faire attention à ce que l'ammoniaque ne se dégage pas par l'addition des réactifs alcalins. —

Nous avons signalé aussi les critiques qu'on a fait à la méthode gaz-volumétrique de Gad-Andresen (35). — Peut-être devrait-on tenter d'essayer les microméthodes employées en Chimie Biologique pour la détermination de l'ammoniaque (ou de l'urée après transformation en carbonate ammoniaque); c'est à dire, de procéder à froid en mileu alcalin, et d'entraîner l'ammoniaque produit par un courant d'air pour le fixer dans une solution titrée d'acide sulfurique et finir par un titrage acidimétrique de l'excès de cet acide; comme cela, on écarte tous les inconvénients de la méthode colorimétrique avec le Nessler, on ne dose que le vrai ammoniaque et l'influence du chlorure mercurique sera certainement nulle.

L'ancienne méthode de dosage des nitrites dans l'eau de mer est celle employée par Natterer (28) dans la campagne du »Pola«; elle est fondée sur la coloration bleue produite avec un iodure en milieu acide et en présence de l'amidon (réactif Tromsdorff généralement); cette méthode est maintenant délaissée parce qu'elle est peu sûre et sensible pour les très petites quantités de nitrites qu'il faut doser; l'évaporation et la concentration de l'eau peuvent fixer de l'azote de l'air à l'état d'acide nitreux (seulement on doit opérer au vide ou dans un courant d'anhydride carbonique); il faut compter encore (pour la méthode de l'iodure d'amidon) avec les difficultés causées par la présence des sels ferriques et de la matière organique. — La méthode au permanganate et dosage à retour avec du sulphate ferrique ammoniaque (Allemagne, pour les eaux potables) n'est pas bonne à cause de la matière organique qui réduit aussi au réactif permanganique. Les méthodes colorimétriques sont d'usage très répandu; elles sont très pratiques lorsqu'il s'agit de doser de petites quantités de nitrites comme c'est le cas pour l'eau de mer. La méthode de Griess fondée sur la production du brun Bismarck, a été améliorée par Ylosvay avec l'emploi de l'acide sulfanilique et de la a-naphtylamine en présence de l'acide acétique; la coloration rouge produite, s'il y a des nitrites, demande précisément des quantités milligrammatiques de ces composés, parce qu'elle ne réussit pas si la quantité de nitrites dépasse 0.1 grs par litre; c'est la méthode de choix pour les minimes quantités des nitrites qu'on trouve dans l'eau de mer; et sa grande sensibilité est encore agrandie avec l'emploi du spectrophotomètre (Buch) (29); il n'est pas nécessaire de concentrer l'eau; la salinité n'a pas d'influence; la comparaison de la teinte est faite avec celle produit par une solution qui contient 0.0005 grs d'azote nitreux par litre. — Il y a encore, des méthodes dans lesquelles l'acide nitreux est réduit à ammoniaque, et ce corps est dosé après par les méthodes déjà mentionnées; mais la réduction atteint aussi à l'acide nitrique et, seulement, dans son absence est la méthode applicable; naturellement il faut, d'abord, éliminer l'ammoniaque par évaporation ou distillation, avant de faire la réduction; les réactifs réducteurs employés sont des amalgames de sodium ou d'aluminium (pas de magnesium qui peut contenir de nitrure capable de produire de l'ammoniaque) ou, mieux, de l'alliage Devarda qui ne précipite pas de mercure du chlorure mercurique ajouté, et, pourtant, ce métal n'est pas entraîné par la distillation pour gêner après, le dosage colorimétrique avec le Nessler; en outre des désavantages remarqués à propos de la détermination de l'azote ammoniacal, il y a tous ceux qui découlent de la réduction des nitrates, de la lenteur de la réduction (10 heures pour qu'elle soit complète), de l'élimination préalable de l'ammoniaque, de ses sels et des substances capables d'en produire; et de la présence des antiseptiques tels que le chlorure mercurique ou l'anhydride sulfureux. — Pour la méthode Gad-Andresen voir au-dessus.

De tous les composés azotés l'acide azotique et les azotates sont ceux dont le dosage (et l'identification même) est le plus difficile. La plupart des réactifs tenus comme caractéristiques des nitrates sont aussi des réactifs pour les nitrites, et pour bien d'autres substances oxydantes (chlorates, chromates, ferricyanures etc.); une réaction tout à fait spéciale des nitrates et, pourtant, différentielle avec les nitrites, est encore à trouver; le moyen sûr et simple de reconnaître et de doser l'acide nitrique en présence de l'acide nitreux nous manque, à présent; les colorations avec de la brucine, da la diphenylamine

e carbazol; la production d'oxide nitrique par l'acide sulfurique et le cuivre; ou par 'acide chlorhydrique et le chlorure ferrique; la réduction à l'ammoniaque etc. sont des réactions absolument inutiles si on se trouve dans le cas des nitrites à côté des nitrates; dans ce cas on peut faire l'élimination des nitrites par distillation avec de l'acide acétique; 'acide nitreux est entraîné dans le distillat et l'acide nitrique reste; mais ce procédé n'est pas applicable à de petites quantités des corps cités; il ne l'est pas non plus pour ne détermination quantitative quelconque, parce que dans un milieu acide les nitrates e changent en partie, en nitrites. La séparation au moyen de l'urée ou de l'hydrazine ui détruient ces sels, demande une concentration préalable de l'eau et n'est pas du tout omplète; l'évaporation a le risque de fixer de l'azote athmosphérique et la filtration uivante entraîne de petites quantités d'acides nitreux et nitrique fixés d'avance dans les apiers à filtrer. Il faut compter encore les inconvénients de l'addition du chlorure mer- urique ou de l'acide sulfureux déjà signalés. — La méthode de Harvey (38) qui profite le la réaction de Denigès (39) de la strychnine réduite (coloration rouge en milieu acide, n présence de l'acide nitrique) n'est pas utile que si on trouve dans l'absence des nitrites i'autres substances oxydantes, des sels ferriques, de matière organique et de plankton; ussi la salinité a une influence gênante. — La méthode colorimétrique avec de l'acide henoldisulfonique (Sprengel) qui est, semble-t-il, caractéristique des nitrates en pré- ence des nitrites et qui n'est pas troublée par l'existence des chlorures, n'a pas encore été ppliquée à l'eau de mer et il vaudra la peine de l'essayer.

Presque toutes les méthodes de dosage de l'azote albuminoide sont basées sur oxydation au permanganate en présence d'un alcali. Nous avons remarqué déjà que lusieurs investigateurs ont prouvé que ce réactif n'oxyde à l'état d'ammoniaque que le 0 % à peu près, du nitrogène albuminoide (Nathansohn, Preuse, Tiemann etc.); en evanche, il oxyde d'autres substances non proteïques telles que certains amino-acides, réides etc. — Toutes ces méthodes manquent de précision et apportent aussi tous les nconvénients signalés pour les dosages colorimétriques avec le réactif Nessler. — vrai dire c'est une partie de l'azote organique que l'on dose et pour cela il vaut mieux mployer les méthodes de combustion organique en grille *ad hoc*, de Dumas, Will et Varrentrapp etc. sur le résidu d'évaporer l'eau. — La substitution du persulfate au ermanganate potassique, recommandée par Winkler est très utile mais encore, dans e cas, l'oxydation des matières albuminoides n'est pas complète.

Le calcul de l'azote total par addition des valeurs trouvés pour l'azote ammoniacal, itreux, nitrique et albuminoide est tout à fait incertain parceque il y a encore un ensemble es corps azotés qui ne se classent pas dans ces groupes et qui existent dans l'eau de mer. — La détermination directe peut se faire par la méthode de Kjeldahl avec des modifi- ations nécessaires pour la présences des nitrates et des nitrites; mais il ne faut pas ublier que c'est tout l'azote des proteïnes vivantes ou mortes qui se dose à côté de l'azote norganique, dans le résidu de l'évaporation de l'eau de mer.

On doit considérer ici ce que l'on appelle »Matière organique«, cet ensemble très omplexe de corps, dont plusieurs sont azotés. — On fait d'habitude le dosage par le ermanganate, et ce qu'on détermine c'est le degré d'oxydabilité pour le réactif. En outre es inconvénients de la grande quantité des chlorures qui gênent beaucoup les détermi-

nations au permanganate et dont nous avons remarqué déjà l'influence et la façon d'y parer, il y a encore ceux qui prennent origine dans l'antiseptique ajouté, dans la filtration de l'eau et dans la matière filtrante, dans le concept très peu clair et précis de ce qu'il convient d'entendre par »Matière organique« etc. En tout cas il faudra établir une définition précise, une méthode détaillée de détermination et une forme unique d'expression pour les résultats d'analyse. On peut trouver une ample étude de ces questions dans mon travail publié en 1924 (33) (Mémoires de l'Institut espagnol d'Océanographie) et dans mon rapport à la Commission internationale pour l'exploration scientifique de la mer Mediterranée (no. 10. — Bulletin) (40).

5) Expression des résultats d'analyses. — La question est d'arriver à un accord ferme (pour obtenir que les résultats soient comparables) sur les points suivants:

1) Expression toujours en azote et pas en composé azoté; c'est à dire, azote ammoniacal au lieu d'ammoniaque; azote nitreux au lieu d'acide ou d'anhydride nitreux etc. —
2) Expression du nitrogène toujours en poids (grammes par kilogramme d'eau) et pas en volume (centimètres cubiques par litre) ou en poids et volume (grs par litre ou c. c. par kgrs). — Pour la matière organique c'est le degré d'oxydabilité de l'eau ce qu'on doit exprimer et, par conséquent, les résultats doivent être donnés en grammes d'oxygène dépensés, par kilogramme d'eau.

Il y a encore un sujet particulièrement intéressant c'est celui des relations des quantités du nitrogène trouvé, avec celles de l'oxygène et celles du carbone, celles de l'anhydride carbonique etc.

Bibliographie.

(1) Riegler. — Zeit. anal. Chem. — t° 41, pag. 675. — An. 1902.
(2) Posternak. — Bull. Soc. chim. France (4. serie) t° 27, pag. 508 et 564. — An. 1920.
(3) Raben. — Wiss. Meeresunters. — Kiel. t° 18. — An. 1916.
(4) Association of official agricultural chemists (Official and tentative methods) 2. edition pag. 100. — An. 1925.
(5) H. Pemberton. — Journ. amer. chem. Soc. — t° 15, pag. 382. — An. 1893.
(6) I. Pouget et D. Chouchak. — Bull. Soc. chim. France (4. serie), t° 5, pag. 104. — An. 1909.
(7) G. Denigès. — Compt. rend. de l'Acad. sci. Paris. — t° 171, pag. 802. — An. 1920.
(8) Matthews. — Journ. of the Marine Biol. Assoc. t° 11, pag. 122 et 251. — An. 1917.
(9) W. Bloor. — Bull. Soc. chim. biol. t° 3, pag. 451. — An. 1921.
(10) Y. Terada. — Biochem. Zeitschr. t° 145, pag. 426. — An. 1924.
(11) F. Tisdall. — Journ. of biol. Chem. — t° 50, pag. 329. — An. 1922.
(12) W. R. G. Atkins. — Journ. of the Marine Biol. Assoc. t° 13, pag. 144. — An. 1923.
(13) Taylor et Miller. — Journ. of biol. Chem. t° 18, pag. 215. — An. 1914.
(14) D. Bell et E. Doisy. — Journ. of biol. Chem. t° 44, pag. 55. — An. 1920.
(15) Briggs. — Journ. of biol. Chem. t° 53, pag. 13. — An. 1922.

(16) I. Reizo Yamamoto. — Journ. Scien. Agr. Soc. Japan. no. 233, pag. 79. — An. 1922.
(17) C. H. Fiske et Y. Subbarrow. — Journ. of biol. Chem. t° 66, pag. 375. — An. 1925.
(18) N. B. Guerrant. — Journ. of the Amer. chem. Soc. t° 48, pag. 2185. — An. 1926.
(19) L. Losana. — Giorn. chim. ind. applicatta. t° 4, pag. 60 — An. 1922.
(20) W. M. Thornton et H. L. Elderdice. — Journ. of the Amer. chem. Soc. t° 45, pag. 668. — An. 1923.
(21) D. Florentin. — Ann. Chim. anal. et Chim appl. (2. serie). t° 3, pag. 295. — An. 1921.
(22) G. Fontès et L. Thivolle. — Bull. Soc. chim. France (4. serie). t° 33, pag. 835. — An. 1923.
(23) O. Svanberg, K. Sjøberg et G. Zimmerlund. — Arkiv. for Kemi, Mineral. och Geol. t° 8, pag. 17. — An. 1922.
(24) E. Raben. — Wiss. Meeresunters. — Kiel. t° 16, pag. 315. — An. 1913.
(25) Gebbing. — Chem. Untersuch. usw. Deutsch. Süd-Polar Exp. t° 8, pag. 134. — An. 1909.
(26) Harvey. — Journ. of the Marine Biol. Assoc. t° 14, pag. 77. — An. 1926.
(27) A. Nathansohn. — Intern. Rev. Hydrobiol. und Hydrogr. t° 1, pag. 45. — An. 1908.
(28) K. Natterer. — Ber. d. Comm. f. Erforsch. d. östl. Mittelmeeres. (Campagne du »Pola«). — t° 4, pag. 34. — An. 1894.
(29) K. Buch. — Öfv. Finska Vet. Soc. Förh. t° 57. — An. 1915.
(30) K. L. Gad-Andresen. — Cons. perm. intern. p. l'expl. de la mer. Publ. de circonstance n° 82. — An. 1923.
(31) K. Brandt. — Stickstoffverbindungen im Meere. — Deutsch. wiss. Komm. f. Meeresforschung. t° 1, pag 214. — An. 1927.
(32) W. E. Ringer et J. M. Klingen. — Verhand. Rijksinst. onderzoek. der Zee. t° 2. An. 1907.
(33) J. Giral. — Notas y resumenes de l'Institut espagnol d'Océanographie. — 2. serie. — no. 4.
(34) L. L. de Koninck. — Chimie analytique. t° 4, pag. 546. — An. 1918.
(35) Orr. — Journ. of the Marine Biol. Assoc. t° 14, pag. 56. — An. 1926.
(36) B. Moore. — Biochemistry. — Pag. 124. — An. 1921.
(37) R. Witting. — Öfv. Finska Vet. Soc. Förh. t° 56, no. 15. — An. 1914.
(38) Harvey. — Journ. of the Marine Biol. Assoc. t° 14, pag 71. — An. 1926.
(39) Denigès. — Bull. Soc. chim. France (4 serie). t° 9, pag. 544. — An. 1911.
(40) J. Giral. — Bull. de la Comm. intern. p. l'expl. scient. de la Mer Mediterranée. no. 10, pag. 48. — An. 1924.

IV. Methods of Estimating Phosphates and Nitrates in Seawater.

By

H. W. Harvey, M. A.

The foundations of our present knowledge of the nitrates and phosphates present in the sea, and their utilisation by vegetable plankton, have been laid by the classic researches of Brandt and Raben. The minute quantities in which these salts occur in sea water, and the presence of many other dissolved salts and of organic matter, made their analysis of great difficulty by the only methods which were then known — methods which required much time and skill and were subject to error.

The discoveries of delicate colour reactions given by these salts have since led to methods of estimation which are rapid and simple.

Phosphates.

The method used by Raben to estimate phosphates was to concentrate the sea water by boiling, precipitate the phosphate as ferric phosphate, dissolve in nitric acid and convert into ammonium phosphomolybdate. Sea water contains a certain small quantity of arsenite. This is also precipitated as ferric arsenite. Nitric acid converts it into arsenate. Arsenates are precipitated by ammonium molybdate as well as phosphates.

Hence we may expect that the values for phosphate obtained by this method will be somewhat high, owing to some of the arsenite in sea water being included as phosphate. The lowest values obtained were about 60 or 70 mg. P_2O_5 per m^3 in the upper water strata of the North Sea in summer.

In 1915 Matthews employed a different method. The phosphates were precipitated with ferric chloride and alkali, dissolved in nitric acid, and estimated by the yellow turbidity given on adding nitromolybdate of strychnine. This does not give a colour with arsenates in dilute solution in the cold. The values obtained for surface water in the English Channel were about 50 milligrams of P_2O_5 per cubic metre during the winter, falling to 6 to 20 milligrams per cubic metre during the summer.

In 1923 Atkins adapted a method for estimating phosphates which had been discovered by Denigès.

To a 100 cc. sample of sea water were added 2 cc. of a solution of ammonium mo-

ybdate ($2^1/_2$ %) in 38 % (by volume) sulphuric acid, and also a drop of very dilute stannous chloride solution. At and around this particular concentration of acid, and in the presence of the mere trace of reducing agent-stannous chloride — the molybdate reacting with the phosphate in the sea water is reduced and forms a blue compound. Arsenite gives no appreciable colour. Arsenate gives a blue colour but it is probably not present in the sea water as such, it is only produced when the water is previously acted upon by a strong oxidising agent.

The method of estimation employed by Atkins is as follows: — A Heyner cylinder is filled with a solution of potassium dihydrogen phosphate in distilled water containing 50 mg. or other suitable concentration of P_2O_5 per cubic metre, to which the acid solution of molybdate and the trace of stannous chloride have been added. The other cylinder is filled with sea water to which the reagents have been added in the same proportion.

The blue colour develops to its full extent within a few minutes and only very slowly fades. For an hour or more it remains materially the same. Supposing the sea water contains less phosphate than the standard phosphate solution, then the level of sea water in the cylinder is adjusted to the zero mark. The cylinders are held side by side over a piece of white paper, and the liquid in the other cylinder is run out from the tap until the depth of colour in the two columns is the same.

Let us say, as an instance, that the column of sea water 14 cms. deep matches a column of the standard 5.6 cms. deep and containing 50 mg. P_2O_5 per cubic metre. At a first approximation we may assume that the sea water contains $\frac{5.6}{14}$ of 50, or 20 mg. P_2O_5 per cubic metre.

However, there are 8.4 cms. greater depth of sea water and allowance must be made for the actual blue colour of the water itself, and of the reagents including the trace of phosphate, if any, in the latter. To do this, one cylinder is filled to the 14 cms. mark with distilled water to which the reagents have been added, and this is matched against the standard. It will be found that it matches a column some $1^1/_2$ cms. deep. In other words the inherent colour of the water and reagents in a 14 centimetre column is comparable to the colour given by 5 or 6 milligrams of P_2O_5 per cubic metre. Therefore, from the value of 20 mg. P_2O_5 per cubic metre we must subtract $\frac{8.4}{14}$ of 5, or 3 mg.

Comparison of the very faint blue tints in the two cylinders requires a delicate colour discrimination — which improves with practice. It is an advantage to hold a shield in front of the cylinder when making the comparison.

The results obtained by Atkins by this method are in entire agreement with those obtained by Matthews. They shew that the upper layers of water in the English Channel are almost if not entirely depleted of phosphate by vegetable life during the summer months (Figure 1).

With sea water which is not perfectly clear, that is, when it contains suspended matter giving it a muddy colour as in estuaries, the comparison becomes more difficult.

This difficulty with discoloured estuarine waters may be obviated by working with an apparatus as shown in Figure 2.

The 60 cm. tube A is filled with a sample of sea water to which the acid molybdate solution and stannous chloride have been added. Tube B contains the same water to which the acid molybdate solution only has been added.

Fig. 1. The seasonal variation of nitrate and phosphate in the upper 5-metre stratum of water at position E_1, 22 miles south west of Plymouth. The nitrate represented by a thick line, was estimated with hydrostrychnine and the phosphate, represented by a dotted line by Atkins' method.

The difference in colour of the two columns of liquid is due to the blue compound set free by the stannous chloride in A, and is proportional to the amount of phosphate plus arsenate, if any, in the sample.

This may be measured by placing in front of B a series of glass vessels containing solutions of phosphate in distilled water to which the reagents have been added, until

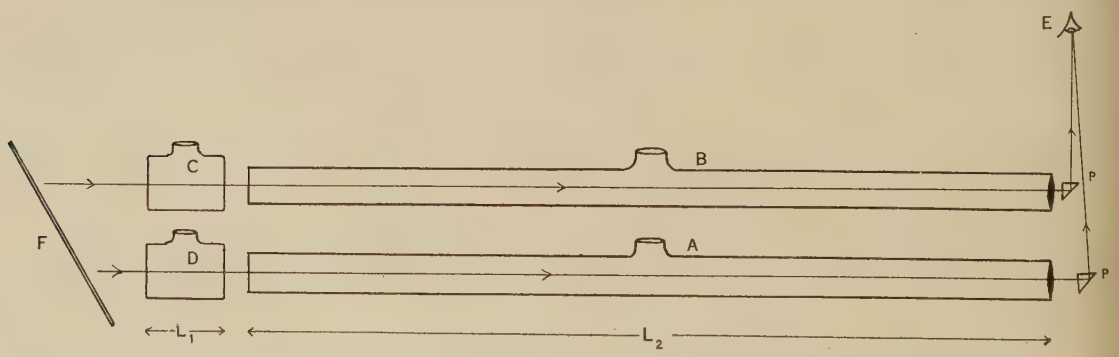


Fig. 2. Diagram of apparatus for the estimation of phosphate in discoloured sea water. A, B Glass tubes 60 cms. long and about 3 cms. diameter, closed at one end with glass plates and at the other end with lenses (3 diopter biconvex). C, D, bottles with flat glass sides or glass wedges. E, observer's eye. P, P, right angled prisms. F, white plate.

a match is obtained. A similar vessel containing distilled water only is placed in front of A in order to cut off by reflection an equal amount of light. From the concentration of phosphate in C and the relative lengths of L_1 and L_2 the concentration of phosphate in B can be calculated.

Figure 3 shows a simple apparatus by which the phosphate concentration in sea water from the open sea, free from suspended dirt, can be measured in three minutes with only a little preliminary practice.

A bottle is filled roughly to a 150 cc. mark on the neck, about 3 cc. of ammonium molybdate ($2^1/_2$ %) in 38 % sulphuric acid and two drops of a very dilute solution of stannous chloride are added.

This is poured into a 60 cm. tube, a lens placed on top and the colour matched against the nearest of a series of bottles. The bottles contain graded concentrations of a mixture of copper sulphate solution with a little ordinary writing ink. They were made up some months ago, appear to be permanent, and have been calibrated in the apparatus against solutions of phosphate in distilled water of known concentration.

The technique is simple and rapid and the long column of liquid enhances the depth of colour, making it easier to match the two colours.

With regard to the accuracy obtained. A colleague without previous experience of matching these colours, very kindly estimated the phosphate content of samples of water to which definite quantities of phosphate had previously been added, with the following results: —

Phosphate present	Phosphate found	Phosphate present	Phosphate found
52	50	13	12
42	40	8	$6^1/_2$
36	35	6	5
30	30	5	5
25	25	3	under 2
22	24	2	(5)
20	20	0	under 4, i. e., 0—3
17	20	0	under 2
15	14		

The object of an apparatus such as this is twofold. It makes the colour matching easier, showing greater depths of colour than the shorter Heyner tubes. It should allow the actual estimation to be carried out on board ship during fine weather. This has a decided advantage. If samples of water are stored and light gets to them, the phosphate is used by the phytoplankton present. If they are stored in the dark there is a gradual splitting off of phosphate from the contained plankton as it dies. An increase of some 200 % has been found by GILL on storing North Sea waters for 40 days.

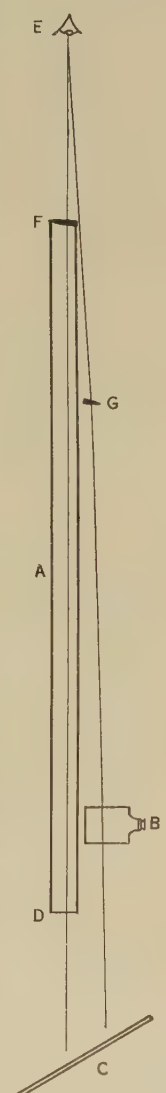


Fig. 3. Diagram of an apparatus for the rapid estimation of phosphate in clean sea water. A, glass tube 60 cms. long and about 1.7 cms. diameter, closed at the bottom with a glass plate, D. B, one of a series of bottles filled with blue solution. E, observers eye. F, half lens resting on tube at an angle of about 10°, and giving a magnified image of D. The lens is 3 diopter biconvex. G, Portion of 3 diopter biconvex lens giving a magnified image of part of the bottle B. C, white plate.

Nitrates.

The estimation of minute quantities of nitrate in sea water presents difficulties, although nitrites may be readily estimated. The method of reducing the nitrates and nitrites by means of nascent hydrogen and their estimation as ammonia is open to error, because this treatment also decomposes and sets free ammonia from nitrogenuous organic matter. This has been found to occur in the analyses of water extracts of soil. Since sea water contains organic matter which yields albuminoid ammonia when boiled with permanganate, it may be expected to occur in this case also. RABEN's analyses by this method showed a decrease in nitrates in the upper layers of the North Sea in summer, to about 60 or 70 milligrams per cubic metre, the winter value being about 180 milligrams.

REDEKE and RINGER, using the same method, found under 10 milligrams per cubic metre during summer in the Zuider Zee.

These estimations are in parts per thousand million — dilutions at the extreme range which can readily be subjected to chemical measurement.

TAFEL and NAUMAN found that on reducing strychnine a product was formed which gave an intense red with nitrites, and after the addition of concentrated sulphuric acid an intense red with nitrates. DENIGÈS suggested this reaction as a test for nitrates and it is the most delicate which I have been able to find.

On adding this hydrostrychnine to water, collected on several occasions during the summer in the English channel, twenty miles to sea, no red colour has been given due to nitrites. Further, on adding sulphuric acid no colour developed owing to nitrates. However, if a minute trace of nitrate was added to these samples — 10 mg. nitrate-N_2 per cubic metre — a decided and definite pink colour developed.

This strongly indicates that the water sample contained less than 2 or 3 mg. of nitrate-N_2 per cubic metre.

It fortunately happens that on adding a solution of hydrostrychnine in concentrated sulphuric acid to an equal volume of very dilute nitrate solution, the quantity of the red coloured compound produced is, within limits, proportional to the nitrate present.

This was shown by adding varying amounts of nitrate to a sample of sea water, treating these with the hydrostrychnine in sulphuric acid, and comparing the depths of colour produced in an ordinary colorimeter. By assigning the value of 100 arbitrary units of colour to the water which had 80 mg. nitrate-N_2 per m^3, added to it, the units of colour produced in the other cases was calculated. The proportionality between nitrate and colour produced is shown in Fig. 4.

Above a certain concentration of nitrate the proportionality ceases.

The red compound produced by a fixed quantity of nitrate appears not always exactly the same in different samples of sea water. This may be due to nitrate reacting with traces of organic matter in the presence of sulphuric acid.

The method employed to estimate nitrate in a sample of sea water was to add an equal volume of hydrostrychnine in sulphuric acid to 5 or 10 cc. of the sample and also to 5 or 10 cc. of the sample to which had previously been added a known amount of nitrate. After standing in the dark for about 18 hours the colours were compared in an ordinary colorimeter.

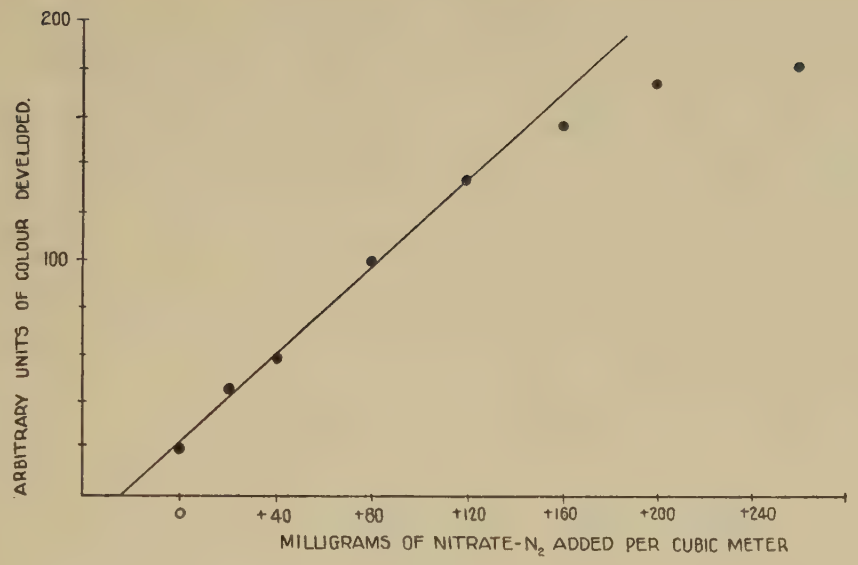


Fig. 4.

Taking a typical instance, the lengths of the columns having equal colour were

For water + reagent ..... 22 mm.
For water + 20 mg. per m^3 of added nitrate-N_2 + reagent ..... 10 mm.

Then if the water sample contained x milligrams per cubic metre of nitrate + nitrite nitrogen

$$\frac{x}{x+20} = \frac{10}{22}.$$

It is not claimed that this method gives exact values — but it has given an interesting general picture of the annual variations in the English Channel and the general conditions in other areas.

The main difficulty has been to obtain acids free from nitrogen oxides in order to make the reagent.

Several dozen batches of reagent have been useless, owing to the presence of nitrite or nitrate in the reagent itself. On several occasions the reagent when stored in white glass bottles has turned pink; this may have been due to nitrate dissolving out of the glass, since sodium nitrate is used in the manufacture of some white glass.

Bibliography.

Atkins, W. R. G. »The Phosphate Content of Fresh and Salt Waters in its Relationship to the Growth. of the Algal Plankton.« Journ. Mar. Biol. Assoc. 13, 119—50. 1923.

— »Seasonal Changes in the Phosphate Content of Sea Water in Relation to the Growth of Algal Plankton during 1923 and 1924.« Journ. Mar. Biol. Assoc. 13. 700—20. 1925.

— »The Phosphate Content of Sea Water in Relation to the Growth of the Algal Plankton.« Journ. Mar. Biol. Assoc. 14. 447, 1926.

— »A Quantitative Consideration of some Factors concerned in Plant Growth in Water.« Journ. du Cons. Internat. I. 197—226. 1926.

Atkins, W. R. G. & Wilson, E. G. »The phosphorus and arsenic compounds of sea water.« Journ. Mar. Biol. Assoc. 14. 609—614. 1927.

— »The colorimetric estimation of minute amounts of compounds of silicon, of phosphorus and of arsenic«. Biochem. Journal. 20. 1223—1228. 1926.

Brandt, K. »Über den Stoffwechsel im Meere«. Wiss. Meeresunters: Kiel. 18. 1916—1920.
»Stickstoffverbindungen im Meere.« Wiss. Meeresunters: Kiel. 20. 1927.

Gill, R. »The Influence of Plankton on Phosphate Content of Stored Sea Water«. Journ. Mar. Biol. Assoc. 14. 1057—1065. 1927.

Harvey, H. W. »Nitrate in the Sea«. Journ. Mar. Biol. Assoc. 14. 71—88. 1926. ibid 15. 183—190. 1928.

Matthews, D. »On the amount of phosphoric acid in the sea water off Plymouth Sound«. Journ. Mar. Biol. Assoc. 11. 122—130, 1916. ibid 11. 251—275. 1917.

Raben, E. »Quantitative Bestimmung der im Meerwasser gelösten Phosphorsäure«. Wiss. Meeresunters. Kiel. 18. 1916.
»Vierte Mitteilung über quantitative Bestimmungen von Stickstoffverbindungen im Meerwasser u. s. w.« Wiss. Meeresunters. Kiel. 16. 1913.

Redeke, H. C. & Ringer, W. E. »Over de Eigenschappen van het Zuyderzeewater«. Rapp. Onderzoekingen betr. Visscherij in de Zuyderzee 1905 u. 1906.

V. Die Methoden einer physiologischen Meerwasseranalyse.

Von

Dr. **E. Schreiber,** Helgoland.

Die Bedeutung, welche der Erforschung der Stoffwechselvorgänge im Meere zukommt, wurzelt in der Produktion pflanzlicher Substanz. Seitdem man erkannt hatte, dass die für das Pflanzenwachstum unentbehrlichen Stickstoff- und Phosphatverbindungen im Meere nur in geringer Menge vorkommen, widmete man diesen Substanzen ganz besonderes Interesse. Das bisherige Mittel, die im Meerwasser vorhandenen Quantitäten dieser lebenswichtigen Stoffe zu ergründen, war die chemische Analyse.

Im folgenden soll in Kürze eine ganz neuartige Methode zum Nachweis von Stickstoff- und Phosphatverbindungen besprochen werden, und zwar eine Methode, die ohne jede chemische Analyse sehr genaue Resultate liefert. Dieses ein rein biologisches Verfahren einer sogenannten »physiologischen Analyse« konnte bisher mit gutem Erfolge zur Erforschung der Nährsalzverhältnisse der Deutschen Bucht angwandt werden.

Das Wesen dieser neuen Methode besteht darin, dass man in dem zu untersuchenden Wasser das mehr oder minder reichliche Gedeihen von pflanzlichem Plankton zur Grundlage für die Beurteilung einer Seewasserprobe macht. Dieses biologische Verfahren erfasst das Primäre, nämlich das Pflanzenwachstum selbst, also das, was uns bei der ganzen Problemstellung ursprünglich interessiert.

Um eine Seewasserprobe auf das mehr oder minder ergiebige Pflanzenwachstum im Laboratorium prüfen zu können, war die Lösung des Reinkulturproblems pflanzlicher Planktonten eine Hauptbedingung. Die Vorarbeiten des neuen Verfahrens bestanden also in ausgedehnten ernährungsphysiologischen Versuchen mit Vertretern des Phytoplanktons und in der Gewinnung von Reinkulturen zur Beimpfung der auf ihren Nährstoffgehalt zu prüfenden Seewasserproben. An dieser Stelle ist es nun nicht möglich, über die Kulturversuche selbst zu berichten. Für die nun folgenden Ausführungen genügt die Tatsache, dass eine absolut bakterienfreie Kultur von Planktonalgen im Laboratorium gelungen ist. Marine Spezies der Phytomonadinen Carteria und Chlamydomonas konnten auf geeignetem Nährmedium bereits zwei Jahre lang auf festem Substrat nach Art des bakteriologischen Verfahrens steril weitergezüchtet werden.

Beimpft man gewöhnliches filtriertes Seewasser mit Spuren einer derartigen Reinkultur, zum Beispiel mit Carteria, so entsteht in kurzer Zeit eine regelrechte Carteriablüte,

sodass das Wasser je nach dem ursprünglichem Nährstoffgehalt eine mehr oder weniger grüne Farbe annimmt. Nun ist es natürlich erklärlich, dass eine Planktonalge in einem Seewasser, welches reich an Stickstoff- und Phosphatverbindungen ist, sich üppiger vermehrt, als in nährstoffarmen Wasser. Auf diesem einfachen Grundprinzip baut sich die Methodik der physiologischen Meerwasseranalyse auf. Filtriert man frisch geschöpftes Seewasser und befreit es auf diese Weise von Mikroorganismen, so reichen die im Filtrat noch vorhandenen Stickstoff- und Phosphatverbindungen in den meisten Fällen zur Produktion weiterer Pflanzensubstanz aus. Beimpft man dieses Wasser beispielsweise mit einigen Carteriazellen, so vermehren dieselben sich weiter bis zu dem Moment, wo der im Minimum vorhandene Nährstoff aufgebraucht ist. Auf Grund dieses biologischen Gedankenganges ist es möglich, Seewasserproben aus verschiedenen Jahreszeiten oder von verschiedenen Orten stammend auf die maximale Produktionsfähigkeit pflanzlicher Substanz zu prüfen.

Filtriert und entkeimt wurden die zu untersuchenden Wasserproben mit Hilfe eines sogenannten Seitz-Filters, welches alle festen Bestandteile des Wassers—selbst Bakterien—zurückhält. Dies ist wesentlich, um stickstofftransformierende Bakterien beim Versuch auszuschalten. Die Gewinnung keimfreien von allen festen Bestandteilen befreiten Seewassers ist so wesentlich, dass das verwendete Filter kurz erläutert werden soll: Der Apparat ist ganz aus Metall gearbeitet, sodass eine Veränderung des Nährstoffgehaltes während des Filtrationsprozesses ganz ausgeschlossen ist. Nach jedesmaliger Filtration einer Wasserprobe wird eine neue keimfreie Asbestscheibe in den Apparat eingeklemmt. Durch eine obere Verschraubung wird die Wasserprobe eingefüllt und läuft in langsamen Strome durch ein basales Ablaufrohr in die keimfreie Vorlage. Die Filterscheibe ist so engporig, dass das Wasser nur unter Anwendung von erhöhtem Druck durchgepresst werden kann.

Als Organismus zur Beimpfung der so filtrierten Seewasserprobe wurde die in absoluter Reinkultur vorhandene Carteria gewählt, die sich auch im Laboratorium sehr üppig vermehrt. An dieser Stelle sei bemerkt, dass man bei der Prüfung der maximalen Pflanzenproduktionsfähigkeit durchaus nicht auf Carteria angewiesen ist, sondern dass jedwede in Reinkultur befindliche Planktonalge zur Beimpfung der Seewasserproben verwandt werden kann. Der Untersuchungsgang einer Seewasserprobe auf die maximale Produktionsfähigkeit pflanzlicher Substanz ist kurz folgender: Vom keimfreien Filtrat gibt man 10 ccm mit steriler Pipette in ein peinlichst gesäubertes Reagenzglas und beimpft mit einigen Carteria-Keimen. Schon nach 10—14 Tagen ist die Vermehrung so weit fortgeschritten, dass das Wachstum auf Grund von Nährstoffmangel eingestellt wird. Die erhaltenen Carteria-Mengen, die im Reagenzrohr an der lichtzugewandten Seite des Flüssigkeitsspiegels einen mehr oder weniger sichtbaren grünen Saum erkennen lassen, entsprechen alsdann der maximalen Produktionsmenge der jeweiligen Seewasserprobe. Die Carteria-Ausbeute ist also proportional der Menge des in der Wasserprobe ursprünglich vorhandenen Minimumstoffes. Wesentlich ist es natürlich, den Versuch nicht eher abzubrechen, bis das Seewasser vollkommen erschöpft ist. Schon auf Grund des mehr oder weniger grünen Saumes kann man sich ein rohes Bild von der Produktionskraft einer Meerwasserprobe machen. Genaue quantitative Werte lassen sich aber

nur auf Grund von Zellzählungen ermitteln. Dies kann in der Weise ausgeführt werden, dass man mit einer geeichten Kapillare ein bestimmtes Volumen der vorher gut geschüttelten Carteria-Kultur unter dem Mikroskop auszählt. Sollten in alten Kulturen die gebildeten Palmellen fest an der Wand der Reagenzgläser haften, so genügt Zugabe eines Tropfens Salzsäure und vorsichtiges Aufkochen, um die Carterien in feinster Suspension im Wasser zu verteilen. Auf diese Weise gelingt es, die Anzahl der produzierten Zellen quantitativ zu bestimmen.

Die zu verschiedenen Jahreszeiten an ein und demselben Orte entnommenen Seewasserproben zeigen je nach ihrem ursprünglichen Nährsalzgehalt sehr verschiedene Carteria-Ausbeuten und geben uns Auskunft darüber, wie weit das untersuchte Meerwasser vom Zustande der Entschöpfung entfernt war. Nach obiger Methode wurden in der Nordsee (bei Helgoland) die Produktionsgrössen während eines Zeitraums von einem Jahre allmonatlich bestimmt. Das Gesamtresultat ist kurz folgendes: Die Produktionsvalenz des Nordseewassers ist während der Herbst- und Wintermonate gross, im Sommer dagegen bedeutend geringer. Im Juni 1927 muss der relative Minimumstoff nahezu erschöpft gewesen sein und betrug nur etwa ein Sechzigstel des während der Winterszeit verfügbaren Quantums.

Letztere Resultate geben uns lediglich Auskunft darüber, wieviel Pflanzenmaterial auf Grund des im Meerwasser vorhandenen Minimumstoffes produziert werden kann. Über die Art dieses Stoffes, ob Stickstoff- oder Phosphatverbindung geben die Produktionswerte keine Anhaltspunkte. Im folgenden soll nun besprochen werden, wie man ohne chemische Mittel auch die Natur des Minimumstoffes genau ermitteln kann. Angenommen, im Meerwasser wird das Wachstum infolge N-Mangels eingestellt, während alle übrigen Nährstoffe noch in genügender Menge vorhanden sind, so muss nach Zugabe von Nitraten erneutes Wachstum einsetzen. Ist dies der Fall, so ist damit der Beweis erbracht, dass tatsächlich Stickstoff im Minimum war. Ist dagegen ursprünglich Phosphorsäure im Minimum, so muss Zugabe von Phosphaten vermehrte Wachstumsproduktion zeigen. Auf diesem Prinzip beruhen alle jetzt folgenden qualitativen und quantitativen Stickstoff- und Phosphatbestimmungen.

Der biologische Nachweis des im Meere vorhandenen Minimumstoffes gestaltet sich also in der Praxis folgendermassen: Von der filtrierten Wasserprobe pipettiert man je 10 ccm in drei Reagenzgläser und beimpft mit Carteria. Probe Nr. 1 erhält keinerlei Zusatz; Probe Nr. 2 wird mit Phosphat, Probe Nr. 3 mit Nitrat versetzt. Derjenige Stoff, dessen Zugabe die grösste Carteria-Ausbeute bedingt, war ursprünglich im relativen Minimum. Dies möge an zwei Beispielen erläutert werden:

I. Das im Oktober 1926 geschöpfte Nordseewasser ergab folgende Resultate:

Ausbeute in Seewasser		= 212 Zellen pro 0,01 ccm	
— — —	+ Na_2HPO_4	= 208	— — — —
— — —	+ $NaNO_3$	= 402	— — — —

Es erwies sich also Zugabe von Phosphat als wirkungslos, Zugabe von Nitrat dagegen ergab Produktionssteigerung; also war im Oktoberwasser ursprünglich Stickstoff im Minimum.

II. Das im März 1927 geschöpfte Wasser ergab dagegen folgende Werte:

Ausbeute in Seewasser		= 162 Zellen pro 0,01 ccm	
— — —	+ Na_2HPO_4	= 220	— — — —
— — —	+ $NaNO_3$	= 169	— — — —

Im Märzwasser war also Phosphat im Minimum.

Schon aus den beiden Resultaten der vorerwähnten Oktober- und Märzversuche, wo also einmal Stickstoff, einmal Phosphat im Minimum war, geht hervor, dass die Produktionsfähigkeit des Nordseewassers nicht immer durch ein und denselben Minimumstoff bestimmt wird; im Oktober setzt N-Mangel, im März dagegen P-Mangel der Produktion eine Grenze. Will man daher in den Monatsproben speziell den Stickstoffgehalt quantitativ ermitteln, so gibt man zu den einzelnen Wasserproben Natriumphosphat »im Überschuss« zu, das heisst, soviel Phosphorsäure, dass die pflanzliche Ausbeute jetzt unter allen Umständen durch die im Wasser vorhandenen Stickstoffverbindungen bestimmt wird. Fügt man zu den Seewasserproben der einzelnen Monate Phosphat im Überschuss zu, so müssen jetzt die Carteria-Ausbeuten direkt proportional dem Stickstoffgehalt sein.

Da die Anzahl der Carterien nur einen relativen Masstab für den Stickstoffgehalt der einzelnen Monatsproben gibt und keinen absoluten, so ist Umrechnung auf den gravimetrischen Stickstoffgehalt, also auf »N_2« erforderlich. Auch dies lässt sich auf rein biologischem Wege feststellen. Hierzu ist nur erforderlich, durch Kulturversuche zu ermitteln, wieviel Carterien auf Grund einer bekannten Stickstoffmenge produziert werden können. Dies wurde in der Weise bestimmt, dass zu stickstoffreiem Seewasser (P im Überschuss) genau abgewogene Nitratmengen zugefügt wurden. Proportional den zugegebenen Nitratmengen bekommt man recht genaue Carteria-Ausbeuten. Die Carteria-Werte der einzelnen Monate ergeben auf N_2-Gehalt umgerechnet alsdann das Jahresbild für den Stickstoffgehalt des Nordseewassers.

Obige Gesamtstickstoffbestimmung erhält neben der Möglichkeit eines rein biologischen Nachweises noch besonderen Wert durch die ausserordentliche Empfindlichkeit. Schon in unzentrifugierten Zählproben lassen sich noch Mengen von etwa 1 mgr Stickstoff pro Cubikmeter Seewasser nachweisen. Bis hierher die Schilderung der physiologischen Stickstoffanalyse.

Der quantitative physiologische Phosphatnachweis im Meerwasser beruht auf demselben Grundprinzip, wie der im Vorhergehenden erläuterte Stickstoffnachweis. Will man nach diesem Prinzip in den einzelnen Monatsproben speziell den Phosphatgehalt quantitativ ermitteln, so gibt man zu den einzelnen Wasserproben Natriumnitrat im Überschuss, dass heisst, soviel Stickstoff, dass die pflanzliche Ausbeute jetzt unter allen Umständen durch das im Wasser vorhandene Phosphat bestimmt wird. Fügt man zu den Seewasserproben der einzelnen Monate Nitrat im Überschuss zu, so müssen jetzt die Carteria-Ausbeuten direkt proportional dem Phosphatgehalt sein. Die Umrechnung der Carteria-Werte auf den P_2O_5-Gehalt erfolgt nach demselben Prinzip, wie bei der Stickstoffermittlung, also durch vergleichende Kulturversuche mit Seewasser bekannten Phosphatgehaltes.

Ein Vergleich der ermittelten N_2- und P_2O_5-Werte des Nordseewassers mit der maximalen Produktionsfähigkeit an pflanzlicher Substanz (in diesem Falle Carteria) ergibt, dass während der einzelnen Monate das Produktionsvermögen entweder mit dem N_2-oder mit dem P_2O_5-Gehalt zusammengeht; und zwar läuft die Produktionslinie immer mit demjenigen Nährstoff zusammen, welcher ursprünglich im Seewasser im Minimum war. Daher bewegt sich die Pflanzenproduktionskurve stets an der zu unterst laufenden Nährstoffkurve. Dort, wo die Pflanzenproduktion mit dem Stickstoffgehalt parallel geht, (in den Monaten Juli bis Februar), war in der Nordsee Stickstoff im Minimum, dort, wo sie mit der P_2O_5-Kurve konform läuft (in den Monaten März bis Juni), muss Phosphat im Minimum gewesen sein. Der Umstand, dass sich die Linie der Maximalproduktion vorzüglich mit der jeweils am tiefsten laufenden Nährstoffkurve deckt, beweist die Zuverlässigkeit des biologischen Untersuchungsverfahrens und gibt Aufschluss über die Bedeutsamkeit der Pflanzenproduktionskurve für die Beurteilung einer Seewasserprobe. Die Produktionskurve stellt keine chemische, sondern eine biologische Kurve dar, denn sie repräsentiert eine Verquickung der Stickstoff- und Phosphatkurve in biologischer Auswirkung.

Die Ausführung der biologischen Stickstoff- und Phosphatanalyse wird weder durch verschiedenartigen Salzgehalt noch durch die Anwesenheit irgendwelcher organischer Stoffe des Meerwassers gestört. Bei Analysierung der Stickstoffverbindungen ist es von besonderem Werte, dass automatisch alle diejenigen Stickstoffverbindungen des Meerwassers angezeigt werden, die auch wirklich von der Algenzelle direkt assimiliert werden können, gleichgültig ob organischer oder anorganischer Natur.

Obige Ausführungen schliessen sich aufs engste der Veröffentlichung Nr. 10 des Bandes XVI der »wissenschaftlichen Meeresuntersuchungen« Abteilung Helgoland an, woselbst auch nähere Angaben über die Ernährungsphysiologie und die Kulturbedingungen von Planktonalgen gemacht werden.

Summary.

Contrary to the methods hitherto employed, of determining the amount of nitrogen and phosphate-compounds contained in sea-water by a chemical process, this method of a so-called physiological analysis of sea-water is used, which is founded upon a more or less strong growth of phyto-plankton in a particular sample of water. A more pronounced reaction of the growth of these vegetable cells, after they have been treated with pure nitrate or a solution of phosphate, will show the kind of nutritive substance, both as regards quantity and quality, contained in the sample of sea-water in relative minimum. Test-experiments by treatment with recognised quantities of nitrate and phosphate showed that the new method gives very exact results, even if the quantities of growth promoting substances present are minimal. The physiological method shows the total of nitrate-compounds absorbable by the vegetable cell no matter whether organic or inorganic. Mistakes which might occur through the presence of certain chemical substances, which react in the same way, are impossible as the vegetable cell itself is used as the indicator of the nutritive substances.

VI. The Determination of Nitrates in Sea Water.

By

Oscar Sund,

Norwegian Fishery Laboratory, Bergen.

The Norwegian fishery investigations are greatly indebted to Mssrs. ATKINS[1]) and HARVEY[2]) in Plymouth on account of the adoption by these workers of a serviceable method of determining, respectively, phosphates and nitrates in sea water.

The first attempt to use these methods in Norwegian waters (apart from a single observation station in the Norwegian channel near the Naze, by the English research steamer in 1925) was made by the present writer on board the Norwegian Fisheries Research vessel, the m/c "Johan Hjort" in the West Fiord (Lofoten area) in April 1927.

The results of this and subsequent investigations on the nitrates and phosphates in Norwegian Waters will be dealt with elsewhere, only so much may be mentioned here, that the first results obtained were of a highly interesting and important character, even if the first figures obtained could only claim a moderate degree of accuracy.

It was found that the upper waterlayers were exhausted, while the deep water everywhere, and especially in certain fjords, contained comparatively large quantities of these two substances which are of prime importance to the growth of vegetable life in the sea.

In view of the great interest connected with a study of the seasonal and local variations in these qualities of the sea water as factors helping to explain the fluctuations of the great fisheries, the determination of phosphates and nitrates has ever since formed an integrating part of the programme of the fishery research in Norway.

The determination of nitrates (together with nitrites) by means of the reagent invented by DENIGÈS and introduced into oceanography by Mr. HARVEY has by degrees been developed on board the "Johan Hjort" to suit the conditions of work in a small ship and I shall try to describe the method used.

The preparation of the reagent has, of course, to be done ashore and a sufficient quantity for the whole cruise stored on board. As the reagent consists mainly of strong sulphuric acid, it is of the utmost importance to store and handle it in a safe way. The

[1]) W. R. G. ATKINS, Seasonal changes in phosphate content, Journ. Mar. Biol. Ass. vol. XIII, s. 693, for Reagent see p. 719.

[2]) H. W. HARVEY, Nitrate in the Sea, ibidem, vol. XIV, s. 71.

reagent used on our fishery research vessels is made at the Fisheries Technological Laboratory by Mr. ENGELSEN. It is stored in brown 1-liter bottles with glass stoppers. Thus only a quantity generally consumed in a few days is handled, while the main supply is stored in complete safety.

In order to limit the consumption of the reagent (which is added to an equal quantity of water to be analysed) samples of only 5 c.c. were used instead of 10 c.c. as recommended by HARVEY (1926). (Later Mr. HARVEY uses, as I learnt at the last Copenhagen meeting, only 3 c.c.).

The water samples were taken from the Nansen waterbottles immediately after their arrival on deck, and kept in 30 c.c. clear, glasstoppered, numbered flasks which were placed in honey combed wood-blocks, each holding 24 flasks and with a lid to shut out the light.

First the volume of the samples was reduced to 5 c.c. and then the reagent added and the bottle shaken in order to mix the contents before the stopper was put on. If the bottle is shaken with the stopper on, it may expel the stopper by the force of the steam generated by the intense heat caused by the mixing of sulphuric acid with water.

The nitrate used for making standard solutions was $NaNO_3$ of which a solution containing exactly 1 gramme nitrogen per litre was prepared at the Fisheries Technological Laboratory by Mr. BULL. Is was found that sea water taken from the surface at that time (early in April 1927) would give no colour with the reagent and was accordingly considered nitrate-free. (That the reagent, some preparations of it at least, may require the sample to contain a minimum quantity to show any colour at all, was not recognised until much later). By means of this sea water and 1 per mille solution (as to N) of sodium nitrate, standard solutions containing 20, 40, 60, 80, 100, 150, 200, 250, 300, 400 and 500 mg. N pr. cubic metre were prepared, using an intermediate strong solution containing 10,000 mg. pr. cub. metre and prepared by mixing 10 c.c. of the original solution with distilled water to make up 1 litre. Later on it has been found more handy to use an intermediate solution containing only 2,000 mg. N pr. cub. metre. If 0.1 c.c. of this is added to a sample of 20 c.c., its nitrate content is thereby raised by 10 mg. pr. cub. metre, and this quantity corresponds to the limit of accuracy which I was able to obtain in comparing the colour strengths produced.

The comparison of the treated samples with the standard samples was made by the simple method of arranging the bottles containing the standards in a row on a table covered with white paper with just enough space between the bottles to allow one to be inserted between any two. It is thus very easy to put each sample into its correct place except those samples which show very strong colour. Later experiments have shown that the colour strength as function of the nitrate content is by no means a linear one. In this way correct values (though necessarily rough) were found because the whole operation could be performed in a very short time. Later on, in June 1927, when a Dubosq colorimeter was acquired, very irregular values were sometimes obtained. It was soon discovered that this was caused by the fading of the standard. The colour produced is in fact so unstable when exposed to light that, even very faint daylight in the shade will cause the colours to vanish. This circumstance alone makes the use of this form

of colorimeter inadvisable, and there is another which is also very troublesome: the formation of a white deposit in the sample 2 or 3 hours after the reagent has been added. If the samples are examined after a greater interval of time, one has to be very careful to decanter only clear fluid into the cylinders of the colorimeter.

There is also reason to believe that some of the colour strength is lost through increased contact with the air when the sample is transferred to the colorimeter, as an energetic shaking of a red sample will cause the colour to fade. Then it must be remembered that even the smallest particle of dust, especially if containing metals other than iron, will immediately destroy the colour. The same effect is produced by organic impurities. All these circumstances therefore require that the method of investigating the samples shall not necessitate the transference of the fluid, which should be taken from the water bottles, treated, kept and examined in the same flask.

If more accurate results are to be achieved without making a very long series of standards for every small set of samples, an artificial series of colour samples is required. Last winter Mr. G. Rollefsen directed my attention to the existence of a set of pigments intended for painting on photographic diapositives and papers. These colours are sold by the Kodak Co. in the form of paper slips carrying the concentrated pigment which is easily dissolved in water. It proved a comparatively easy matter to stain a number of unexposed, fixed and washed diapositive plates so as to obtain a series of different strengths of colour. To facilitate handling, the plates (size 8.2 × 8.2 cm.) were cut in two, the film covered with a similar glass slide and the edges covered with paper ribbons.

Then a suitable box had to be made to enable the colour of the fluid to be easily observed through the walls of the flasks and to make it possible to insert one or more stained glass slides behind the weaker one of the two bottles compared. The relative colour strength of the glass slides had to be settled beforehand by comparing them *inter se.*

The method was brought to this stage early in 1928. Since then only slight alterations have been considered necessary: the use of stained cellophan instead of photographic plates and the use of flat instead of round flasks.

The use of cellophan ensures a very even staining of the standard slides and the grading is done by the simple method of superimposing two, three, four or more layers of weakly stained cellophan, held between two glass slides. The slides at present in use are made up of slips of cellophan 3 cm. broad and of the following lengths: 18, 16, 14, 12, 10, 8, 6, 4 and 2 cm. and unstained slips of the same lengths. These slips are so placed between the glass slides that the colour intensity increases evenly from one end to the other and the cellophan (and glass) thickness is the same at all points of the slide. Each grade of colour is marked by a figure (0 to 9). The slide can be moved in a vertical direction behind the flasks in the "diascope". By these means a colour estimation can be made in a few seconds and with an accuracy corresponding to a nitrate content of 3 or 5 mg. N pr. cub. metre.

This, then, would be the magnitude of the possible error if no other sources of error were present.

Unfortunately there are several: 1) as mentioned before, the reagent requires

a minimum content to produce any colour at all. Therefore all samples which are expected to contain little nitrate are reduced to a definite volume (20 c.c.) to which a quantity of $Ba(NO_3)_2$ is added corresponding to 20 mg nitrate nitrogen per cub. metre. (Barium nitrate is more convenient than sodium nitrate as a basis for making standard solutions, and every bacterial growth in the stock solution is prevented by the poisonous qualities of the barium salt.)

2) If any samples are expected to be very strong and therefore not easily gauged unless diluted with water free of nitrate or only containing a small (and known) quantity,

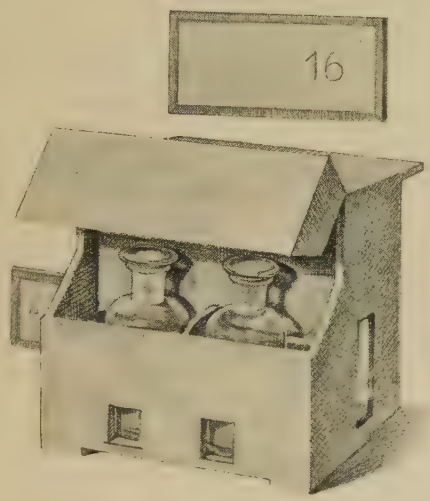


Fig. 1.

Fig. 2.

the practice adopted is to dilute all samples taken from 100 metres or deeper with 2 parts of sea water taken from 10 metres at the same place. If the diluted sample then shows a content of a mg. and the water used for dilution b mg., the original sample contained (3a—2b) mg. The accuracy of the determination is in this case evidently of the order 10 to 15 mg.

3) A third source of error has only recently been discovered and may include more than one factor. It has been found that distilled water to which definite quantities of nitrate have been added does not produce the full colour strength unless salt (NaCl) is added. Dr. Hermann Wattenberg to whom I mentioned this phenomenon when he visited the "Johan Hjort" at Lofoten in April 1928, took a quantity of the reagent with him to Munich and studied the matter closely. He informs me by letter that a salinity of 8 per mille is necessary to bring out the full colour effect of the nitrate content in a water sample. Hence samples of brackish water have to be salted with pure NaCl.

4) The proximity of towns and other sources of contamination undoubtedly have a disturbing effect on the colour reaction. Water samples from the fjord near Bergen,

about 2 kilometres from the harbour limits, gave the following results: in deep water normal values, very similar to those found in many other fjords, samples from 25.10 and 0 metres gave no colour — not even with the addition of 100 mg. nitrate — N pr. cub. metre. In order to be sure whether such a restraining factor is present or not it is necessary to add several definite quantities of nitrate to the sea water and observe the corresponding differences in the degree of reddening produced by the reagent.

(It is tentatively suggested that the phenomenon observed, that a certain minimum strength is required to produce any colour at all, may be due to some chemical agent normally present in natural sea water sufficient to "demobilise" up to 20 mg. nitrate —N per cub. metre).

As an example of the action of the reagent on different concentrations of nitrate artificially produced by adding definite quantities of barium nitrate to a natural sea water, the following figures are given:

Sea water from 10 metres depth "J. H." st. 315, Sept. 18th, 1928, outside the island Hitteren (lat. 63°35′ N., long. 8°05′ E.) 4 hours after adding reagent.

Addition mg N pr. m^3	Reading of colour strength (arbitrary units)
0	0
10	0
20	0.5
30	1
40	2
60	3.5
100	5.5

If these figures are used to construct a graph it is seen that they fall into a curve which may be represented by the general equation

$$y = ax^2 + bx + c$$

where y represents the quantity of nitrate added and x the corresponding number of colour units. The constant c evidently represents the quantity of nitrate-N which must be added to a nitrate-free water before any further addition will produce a perceptible colour.

If the values from the above experiment are inserted *seriatim* in the equation, the constant will be found to lie between 14 and 24.

Consequently, if the content of a solution containing less than about 20 mg./cub. metre is to be determined, the sample should be strengthened by the addition of the said quantity which afterwards has to be deducted. This has been the practice on board the "Johan Hjort" since the spring of 1928 while the dilution of deep water samples with surface water was introduced in the winter of the same year together with the use of permanant dye glass slide standards. The actual calculations are made from the empirical graph found for each set of samples to which known quantities of nitrate have been added.

Results:

A few of the more striking observations may be mentioned to show the significance of this line of investigation in our waters and what may be taken as indications of general conditions.

When the investigation was begun in 1927, late in March in the West Fjord, it was found that the upper layers contained only small amounts of nitrate while the deeper layers seemed to contain much more: The first trial was made at **St. 107**, at Måløyskarholmen (67°46′ N. 14°19′ E.) March 29th, 2.15 p.m., depth 290 metres.

metres	C°	S °/₀₀	Nitrate-N mg. pr. m³
0	3.06	33.31	traces
10	2.97	31	—
25	3.00	35	..
50	53	49	traces
75	76	58	..
100	5.68	34.16	strong traces
150	6.69	62	100
200	84	88	125
250	80	35.01	150

It is to be seen that the high values were restricted to the warm and salt bottom water which has, presumably, in the main its origin from the Atlantic current. Similar results were afterwards obtained at other places within the West Fjord and its tributaries while a station made at the edge of the continental shelf, 60′ N.W. of Røst gave high values also in the upper layers:—

St. 211, April 26th, at 68°05′ N., 9°59′ E., depth over 800 metres.

metres	C°	S °/₀₀	O (c. c.)	pH	Nitr.-N
0	6.25	35.10	6.84	8.05	100
10	52	11	84	00	..
25	64	16	86	7.97	125
50	89	25	76	—	..
75	7.02	25	62	—	..
100	6.97	25	..	—	200
125	87	24	..	—	..
150	49	19	..	—	..
200	34	22	..	—	150
250	13	22	..	7.95	..
300	11	21	..	—	..
400	5.58	16	..	—	225
500	3.21	01	..	7.92	100
600	1.14	34.97	..	—	125

Later on, in the summer, a number of observations were made in the waters outside Finmarken. Two examples only are given, one (st. 323), June 11th, 1927, half way between Vardø and Cape Njemetski and one (st. 379) July 7th, 1927, about 50′ N.E. of Berlevåg.

St.	323	379	323	379	323	379
metres	C°		S °/₀₀		N (mg.)	
0	4.05	8.38	33.76	34.29	110	0
10	3.92	33	77	29	110	0
25	46	6.38	34.30	47	..	..
50	47	4.64	28	61	170	30
75	2.37	17	30	66	..	..
100	10	27	30	79	270	80
125	1.97	3.72	32	80	..	..
150	81	75	34	90	320	95
200	72	4.02	32	98	350	100
250	58	3.51	..	35.01	..	105
260	56	..	39	..	450	..
300	..	2.63	..	02	..	105

It is to be seen that great diversities are met with in this area and such as should justify much detailed research work.

As an example of the peculiar conditions to be found in certain fjords the observations from Ulfsfjord in 1927 are given. Ulfsfjord lies a short distance to the East of Tromsø and its inner part is barred by a shelf rising to 11 metres below the surface.

The peculiar contrast found between the inner and the outer part of the fjord may possibly be connected with a great change in the character of the water which must have taken place between 1922 and 1927 as will be seen from the figures referring to the conditions in the former year, which are given here:

	Inner Ulfsfjord (69°34′ N. 19°45′ E.)					Outer Ulfsfjord (69°47′ N. 19°49′ E.)				
St.	212	406	212	406	406	209	407	209	407	407
Year	1922	1927	1922	1927	1927	1922	1927	1922	1927	1927
Date	23/9	16/7	23/9	16/7	16/7	22/9	16/7	22/9	16/7	16/7
metres	C°		S °/₀₀		N mg.	C°		S °/₀₀		N mg
0	6.78	14.26	31.44	14.07	0	8.50	12.50	33.40	30.17	0
5	8.03	7.74	32.37	30.07	..	..	8.94	..	57	..
10	27	23	33.22	43	0	93	7.81	59	32.53	0
20	11	6.36	39	31.83	..	9.23	65	86	33.35	..
30	03	10	44	32.09	..	27	54	93	78	..
40	7.41	5.88	51	25	..	36	6.41	34.04	87	..
50	4.68	38	64	42	0	91	5.80	14	34.01	0
60	3.44	24	76	54	0	..	..	..	..	..
75	2.84	4.86	83	71	0	72	4.58	22	33.99	0
100	18	60	96	89	0	25	3.54	24	34.01	25
120	1.98	54	34.00	86	0	..	97	..	24	..
125	..	56	..	88	..	..	4.10	..	29	..
130	..	54	..	85	5	..	..	..	..	..
150	..	..	..	..	..	6.29	52	36	55	100
160	..	..	..	..	..	..	59	..	56	..
200	..	..	..	..	..	4.41	72	..	71	80
255	..	..	..	..	..	..	75	..	72	65
260	..	..	..	..	..	3.85	..	..	..	..

The experiences gained during the winter and spring of 1928 in the Lofoten area may be summarised thus: after April 10th the values in the upper layers were very

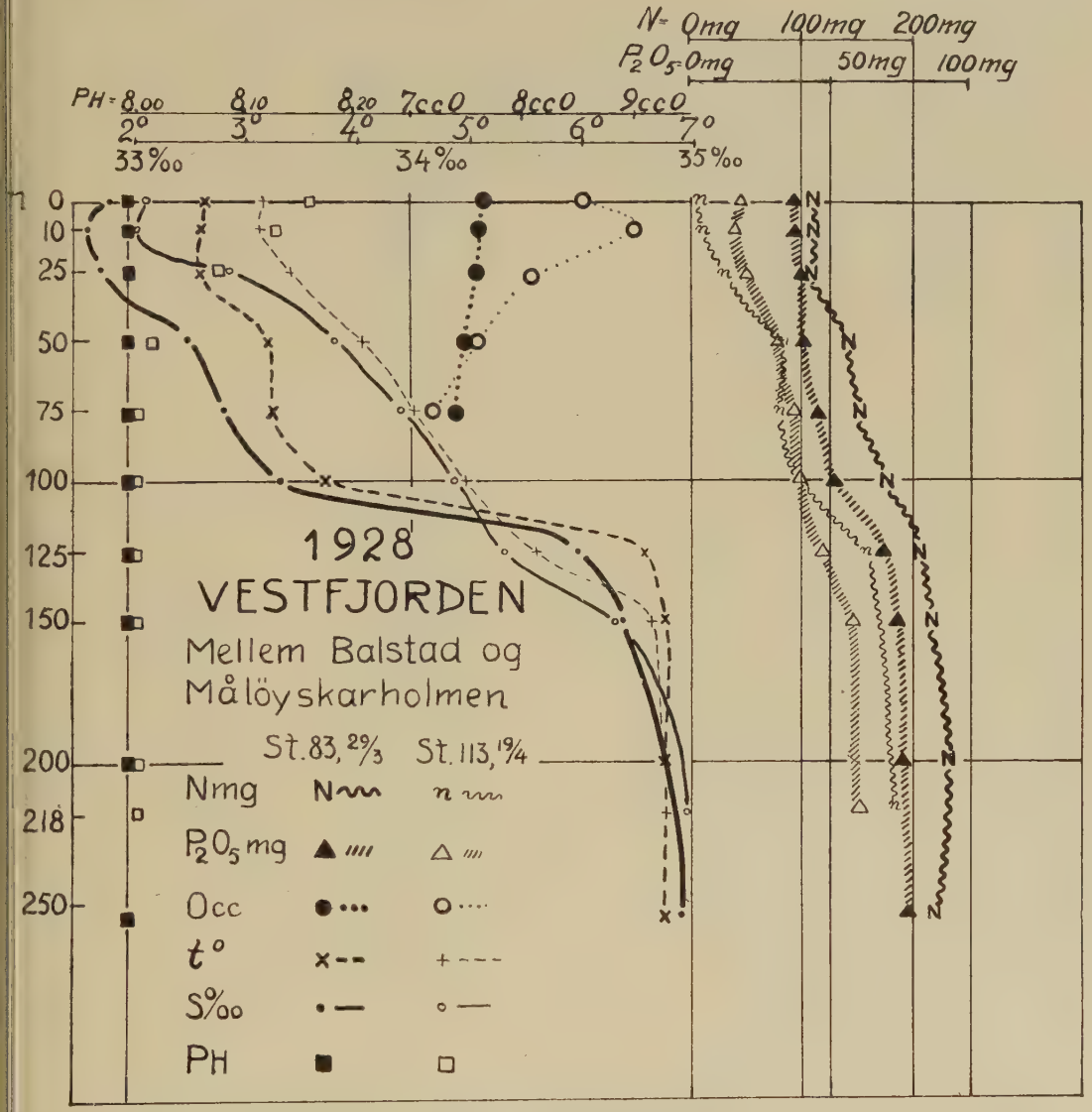


Fig. 3.

low, as in the preceding spring, but before that date very high quantities were present. The chief growth of diatoms occurred in the first week of April. In the deeper layers the quantities found were much greater, about twice as great as those measured in 1927.

On the edge of the continental shelf approximately the same quantities were found after the spring flowering of diatoms as in 1927 (about 100 mg. in the upper layers) while before that time nearly the same quantities were present throughout the whole column ($\gtrless$ 200 mg.).

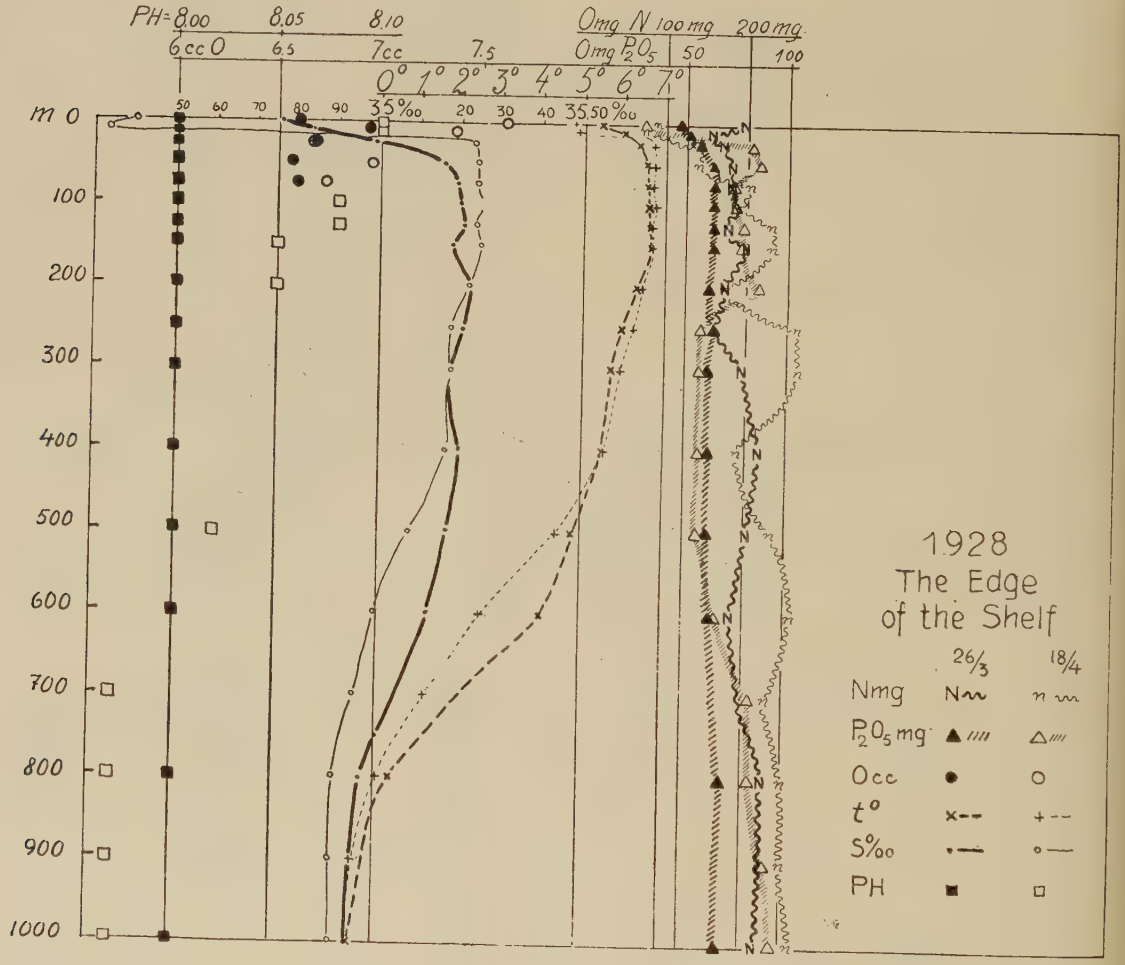


Fig. 4.

For the sake of simplicity these conditions are instanced here only by the following 4 series of observations, two from between Måløyskarholmen and Balstad in the central part of the West Fjord, st. 83 (67°57′ N. 13°55′ E.) and st. 113 (67°55′ N. 13°55′ E.) and two from the edge of the shelf, st. 64 (68°57′ N. 12°55′ E.) and st. 110 (69°02′ N. 12°43′ E.).

I. The West Fjord.

St.	83	113	83	113	83	113	83	113	83	113	83	113
Date	29/3	19/4	29/3	19/4	29/3	19/4	29/3	19/4	29/3	19/4	29/3	19/4
metres	C°		S °/00		O (cc.)		pH		P_2O_5		N	
0	2.67	3.20	32.93	33.06	7.67	8.54	8.00	8.16	37	18	108	10
10	65	17	86	03	64	9.00	00	13	37	16	110	10
25	64	43	91	36	61	8.10	00	08	39	20	105	30
50	3.24	4.08	33.21	73	48	7.60	00	02	40	31	142	80
75	27	54	34	97	42	21	00	01	45	37	150	80
100	74	99	53	34.16	..	..	00	01	51	38	170	95
125	6.58	5.62	34.60	34	..	..	00	01	68	47	205	155
150	77	6.65	75	73	..	..	00	01	73	58	215	..
200	77	..	90	..	..	..	00	..	75	..	229	..
218	..	77	..	99	..	..	..	01	..	60	..	185
255	77	..	96	..	..	..	00	..	77	..	217	..

II. The edge of the continental shelf.

St.	64	110	64	110	64	110	64	110	64	110	64	110
Date	26/3	18/4	26/3	18/4	26/3	18/4	26/3	18/4	26/3	18/4	26/3	18/4
metres	C°		S °/00		O (c. c.)		pH		P_2O_5		N	
0	5.43	4.76	34.76	34.40	6.60	7.62	8.00	8.10	47	29	195	90
10	98	87	84	33	95	37	00	10	51	32	153	70
25	6.33	6.71	99	35.23	68	6.66	00	..	56	82	166	140
50	53	73	35.16	24	57	96	00	..	63	86	180	140
75	54	71	19	24	60	74	00	..	64	74	177	200
100	60	78	20	25	..	..	00	08	63	74	185	190
125	60	71	21	24	..	..	00	08	63	78	175	230
150	66	69	18	25	..	..	00	05	64	77	197	230
200	33	45	23	22	..	..	00	05	62	85	175	170
250	5.98	23	21	18	..	..	00	..	64	58	162	260
300	71	5.95	18	18	..	..	00	..	61	57	197	260
400	50	54	20	17	..	..	00	..	62	57	217	190
500	4.82	4.42	17	08	..	..	00	02	62	57	203	230
600	05	2.58	13	00	..	..	00	..	63	65	187	260
700	..	1.24	..	34.95	..	..	..	7.97	..	84	..	230
800	0.43	0.12	34.97	90	..	..	00	97	70	84	225	250
900	..	—0.45	..	90	..	..	..	97	..	92	..	250
1000	—0.56	—0.63	94	90	..	..	00	97	69	96	217	260

In conclusion it may be permitted to say, even when allowing a large margin of errors in observation caused by the inherent difficulties of the methods of observation which were only mastered little by little during the work at sea, that the figures cited above show a remarkable relation to the other and more easily determined qualities of sea water and that they may possibly help substantially in explaining some of the questions connected with the economy of the sea.

VII. Die Phosphat- und Nitrat-Untersuchungen der Deutschen Atlantischen Expedition auf V. S. "Meteor".

Von

H. Wattenberg.

Auf der Deutschen Atlantischen Expedition, die von der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft ausgerüstet auf dem Vermessungsschiff der Reichsmarine »Meteor« 14 Querschnitte durch den Südatlantischen Ozean legte, waren neben hydrographischen, biologischen und mineralogisch-geologischen auch chemische Untersuchungen im meereskundlichen Programm vorgesehen. Drei Hauptprobleme waren es, zu deren Lösung die chemischen Arbeiten einen Beitrag liefern sollten:

In welcher Beziehung stehen die chemischen Eigenschaften des Meerwassers im Südatlantischen Ozean zu den Strömungen, besonders zur Tiefenwasserzirkulation,

welchen Einfluss haben sie auf die Bildung und Verteilung der Sedimente, und

in welcher Weise hängt die Verteilung des Planktons von der Verteilung der chemischen Bestandteile im Ozean ab?

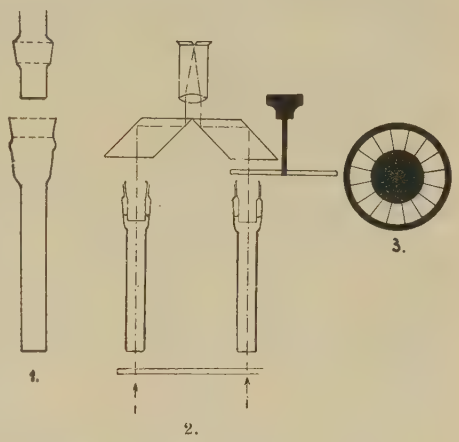
An dieser Stelle interessiert vor Allem die letzte Frage. Für das Wachstum und die Vermehrung des Phytoplanktons sind viele physikalische und chemische Faktoren von Einfluss, wie die Temperatur und die Beleuchtung, der Gehalt des Wassers an Sauerstoff, Kohlensäure, Kalium, Stickstoff und Phosphor. K. Brandt [1]) hat die von E. Mitscherlich durch Kulturversuche an Landpflanzen gefundenen Gesetzmässigkeiten mit gewissen Einschränkungen auf das Meer übertragen und zusammenfassend so formuliert: »Die Wachstumsgeschwindigkeit einer Planktonalge ist abhängig von allen Ernährungsbedingungen, die in geringerer als optimaler Menge zur Verfügung stehen.« Unter den chemischen Faktoren zeigen sich nun in erster Linie in der Konzentration der in sehr geringer Menge vorhandenen Stickstoff- und Phosphor-Verbindungen so grosse Schwankungen, dass in diesem Sinne das Gedeihen des Planktons davon abhängig werden kann. Ja, bei diesen Stoffen kann die Konzentration durch den Verbrauch vom Plankton selbst so tief sinken, dass eine weitere Entwicklung vollkommen unterbunden wird.

Auf dem »Meteor« wurde das Hauptinteresse dem Phosphatgehalt des Meerwassers geschenkt, da nur für Phosphat vor der Expedition eine schnelle und sichere Bestimmungsmethode vorlag. Dies war das Verfahren von Denigès, das darauf beruht,

[1]) Ber. d. Deutschen wiss. Kommission f. Meeresf. N. F. Bd. 1, S. 67.

dass Molybdänsäure bei Einhaltung bestimmter Bedingungen nur in Gegenwart von Phosphorsäure von Zinnchlorür zu einer blauen Verbindung reduziert wird, die zur kolorimetrischen Messung verwendet werden kann. Es wurde etwa in der Form, in der es von Atkins [1]) beschrieben ist, angewandt.

Für die Nitrat-Bestimmung war anfänglich beabsichtigt, eine vorzügliche mikrotitrimetrische Methode zu benutzen, die Rehberg[2]) für andere Zwecke ausgearbeitet hat. Leider reichte infolge der vielen anderen Arbeiten die Zeit nicht aus, an Bord Serienbestimmungen nach diesem Verfahren auszuführen. Nachdem kürzlich durch die Arbeit von Harvey[3]) die Möglickeit geschaffen wurde, wesentlich schneller zu wahrscheinlich gleich guten Ergebnissen zu gelangen, wird sein Verfahren für die von der Expedition mitgebrachten vergifteten Proben verwendet. Harvey hat den ebenfalls von Denigès angegebenen Nachweis von Nitrat mit »reduziertem Strychnin« zu einer quantitativen Methode für meereskundliche Zwecke ausgebaut. Mit Zink und Säure behandeltes Strychnin gibt in conzentriert schwefelsaurer Lösung eine intensive Rotfärbung mit Spuren von Nitraten.



Gelegentlich der Prüfung dieser Methode[4]) wurde versucht, bei der Kolorimetrierung einige Vereinfachungen einzuführen, die erlauben, mit viel weniger Mühe und Zeit (besonders an Bord) serienweise Bestimmungen auszuführen. Bei der Kolorimetrierung der Nitratproben nach Harvey mit einem Dubosq-Kolorimeter ist das Umgiessen der conzentriert schwefelsauren Lösung in die Kolorimeterzylinder bei einer grösseren Anzahl von Proben besonders an Bord kleiner Schiffe sehr lästig. Bei stark wechselnden Nitrat-Gehalten sollte ausserdem der eintauchende Glaszylinder des Instrumentes nach jeder Probe abgespült werden — ebenfalls eine unangenehme Manipulation. Beides kann vermieden werden, wenn man die Aufbewahrungs- und Mischgefässe selbst als Kolorimetergefässe benutzt und so einrichtet, dass man in geschlossenem Zustand eine definierte Schichthöhe klar durchblickt (Abb. 1). Als Vergleich könnte dann wie sonst in einem zweiten Zylinder mit veränderlicher Höhe dienen eine bekannte Lösung, die natürlich immer stärker als die unbekannte sein muss. Aber auch dies kann man noch umgehen und eine weitere Vereinfachung erzielen, wenn man als Vergleich eine Stufenleiter (Abb. 3) oder einen Keil in der Farbe benutzt, die in der Lösung hervorgerufen

---

[1]) Journ. Marine Biol. Assoc. **13**, 119 (1923). Ueber Einzelheiten vergl. den Vortrag von H. W. Harvey. s. S. 68 dieses Bandes.

[2]) Privatmitteilung von Herrn Rehberg, dem ich für seine Freundlichkeit, mir die Methode persönlich zu zeigen, auch hier vielmals danke.

[3]) Journ. Marine Biol. Assoc. **14**, 71 (1926).

[4]) Durch die liebenswürdige Einladung von Herrn Fischereikonsulent O. Sund hatte ich Gelegenheit, an Bord des »Johan Hjort« diese Methode zu studieren und wurde dabei zur Ausarbeitung der im Folgenden beschriebenen Arbeitsweise angeregt.

wird. Es macht heute keine Schwierigkeiten mehr, Gelatinefolien oder Gläser in entsprechender Farben-Nuance anzufärben. Auch prinzipiell würde dadurch eine Verbesserung erzielt werden, da verschiedene Flüssigkeitssäulen neben verschiedener Farbintensität auch verschiedene Helligkeit haben und dadurch oft eine Einstellung auf eine gleiche Farbintensität schwierig ist. Bei dem Vergleich mit Farbstufen sind aber beide Flüssigkeitssäulen immer gleich, denn vor der eingeschalteten Farbe befindet sich der gleiche Zylinder, wie für die unbekannte Lösung, mit reinem Wasser + Reagenz gefüllt.

Man kann vielleicht noch einen Schritt weiter gehen. Beim kolorimetrischen Vergleich kommt es darauf an, die Änderungen in der Intensität des Spektralbereichs festzustellen, in dem die wirksame Substanz das Licht absorbiert. Alles sonst hindurch fallende Licht wirkt nur helligkeitserhöhend und stört deshalb durch Blendung der Augen den genauen Vergleich der Farben. Lässt man nun Licht nur in dem Spektralbereich in das Kolorimeter eintreten, in dem die färbende Substanz absorbiert, z. B. durch Vorschaltung eines geeigneten Filters, so wird die Gesamthelligkeit nur durch die Menge wirksamer Substanz bestimmt. Auf diese Weise können noch viel geringere Unterschiede in der Farbintensität erkannt werden, als bei dem gewöhnlichen kolorimetrischen Verfahren.[1]) Das hat noch einen weiteren Vorteil. Sind in der Lösung neben der gesuchten Substanz noch färbende Beimengungen vorhanden, so kann auf gewöhnliche Weise nur schwer Farbengleichheit erzielt werden. Wird aber nur das für den vorliegenden Zweck wirksame Spektralbereich untersucht, so wird ein solcher störender Einfluss nahezu ausgeschaltet.

Von den vorläufigen Ergebnissen der Nährstoffuntersuchungen auf dem »Meteor« mögen hier einige kurz erwähnt werden.

Betrachten wir zunächst die Verteilung der Phosphorsäure im Südatlantischen Ozean, wo etwa 4000 regelmässig verteilte Bestimmungen vorliegen. Weitaus der grösste Teil des Wassers hat einen verhältnismässig hohen Gehalt an Phosphat, etwa zwischen 70 und 130 mg P_2O_5 pro m^3. Nur eine ganz dünne Schicht in den Tropen enthält wesentlich weniger, bis zu Spuren, die nicht mehr nachgewiesen werden konnten. Die vertikale Verteilung ist hier etwa so gestaltet: Von der Oberfläche bis in 50—150 m Tiefe ist kein oder nur sehr wenig Phosphat vorhanden, dann findet eine sprunghafte Zunahme des Gehaltes statt bis auf die oben angegebenen Werte. Langsam nimmt die Konzentration noch weiter zu bis zu einem Maximum in 800—1000 m Tiefe, um dann nach dem Meeresboden hin wieder etwas abzunehmen.

Für Nitrat ergibt sich nach den bisher ausgeführten Analysen in den niederen Breiten ein ähnlicher Verlauf mit der Tiefe. Auch hier das charakteristische starke Minimum in einer dünnen Oberflächenschicht und das schwache Maximum in ca. 1000 m, auf das Brandt[2]) schon auf Grund einiger Analysen des »Gauss« und »Planet« aufmerksam machte.

[1]) Anmerkung: Es ist z. B. sehr auffällig, wie auf einer Filmaufnahme, die an Bord des Meteor von einer Chlortitration gemacht wurde, der Umschlag viel deutlicher zu sehen ist, als mit blossem Auge. Infolge der fast ausschliesslichen Blauempfindlichkeit des Films erscheint das rote Silberchromat tief schwarz. Es wäre vielleicht auch bei der Chlortitration vorteilhaft, ein zum Silberchromat complementär gefärbtes Filter als Brille oder vor der Beleuchtungseinrichtung als Strahlenfilter zu benutzen.

[2]) Ueber den Nitratgehalt des Ozeanwassers und seine biologische Bedeutung. Abh. Kaiserl. Leop.-Carol. Deutschen Akad. d. Naturforscher Bd. 100, Nr. 4.

Um die Ursachen dieser eigenartigen Nährstoffverteilung aufzuklären, ist es nützlich, die Verteilung des Sauerstoffs und der Dichte zum Vergleich heranzuziehen.

Während in den höheren Breiten der Sauerstoffgehalt bis in die grössten Tiefen ziemlich gleichmässig hohe Werte aufweist, befindet sich in den Tropen schon dicht unter der Oberflächenschicht, die mit der Atmosphäre im Austausch steht, sehr sauerstoffarmes altes Wasser. Dieses ist entstanden infolge Absperrung durch eine dünne warme und salzarme und infolgedessen leichte Oberschicht, die wie Oel auf dem kalten Tiefenwasser liegt, und Konvektion und Austausch weitgehend verhindert. Bekommt einerseits die untere Schicht keine Sauerstoffzufuhr von oben, so erhält andererseits die obere Schicht nur äusserst langsam Ersatz an Phosphat aus der Tiefe, in der dieses reichlich vorhanden ist. Die Dichtesprungschicht ist hier also die gemeinsame Ursache sowohl für die Verteilung des Sauerstoffs wie für die der Phosphorsäure.

Auf die gleiche Weise dürfte man sich auch die Verteilung der Nitrats zu erklären haben. Jedenfalls ist es nicht nötig, in den nitratarmen tropischen Gewässern Denitrifizierung anzunehmen, da diese Gebiete eben auch an Phosphat in gleicher Weise verarmt sind. Und das Phosphat kann ja wohl nur durch den Verbrauch im Phytoplankton verschwinden.

Treffen wir demnach zwar im Allgemeinen in niederen Breiten nährstoffarmes Oberflächenwasser an, so gibt es hier doch auch einige Stellen, wo aus dynamischen Gründen Tiefenwasser mit seinem reichen Nährstoffgehalt an die Oberfläche durchdringt. An der westafrikanischen Küste z. B., wo die beständigen ablandigen Winde Wasser von der Küste wegführen, muss als Ersatz Wasser aus der Tiefe aufsteigen. Wir finden infolgedessen kaltes phosphatreiches Oberflächenwasser und eine üppige Entwicklung des Planktons. Man kann diesen Nährstoff- und Plankton-Reichtum nicht auf die Nähe der afrikanischen Küste zurückführen, denn sonst müsste er eine allgemeine Erscheinung der — relativ — küstennahen Gebiete sein. An der südamerikanischen Küste aber z. B. sind keine höheren Werte des Phosphatgehalts als auf der hohen See und ebenfalls keine wesentliche Vermehrung des Planktons festgestellt worden.

In einigen solchen hervorstechenden Fällen, besonders für gewisse Organismenarten, zeigt sich also, dass im Südatlantischen Ozean das Phosphat (und ebenso wahrscheinlich das Nitrat) die Entwicklung des Planktons bestimmen kann, wenn es in geringerer als optimaler Menge vorhanden ist. Andererseits sind im Einzelnen einstweilen noch keine einfachen allgemein gültigen Beziehungen festzustellen. Erst wenn auch die übrigen Lebensbedingungen mit herangezogen worden sind, und die Bearbeitung, besonders des biologischen Materials, weiter fortgeschritten ist, ist zu hoffen, dass die Beziehungen zwischen chemischen Eigenschaften des Wassers und Produktion an Lebewesen präciser erfasst werden können.

Summary.

The chemical investigations, undertaken on the "Deutsche Atlantische Expedition", during which 14 transverse sections were taken on the "Meteor" in the southern Atlantic Ocean, were carried out in order to throw light on the relation of the

chemical properties of sea-water to the currents, to the formation of bottom deposits and to the distribution of the plankton.

In considering the latter question, which is of primary interest, it is necessary to be acquainted with the distribution of the food substances of the phytoplankton which occur in minimum quantity, and in particular of the phosphorus and nitrogen compounds. On board the "Meteor" some four thousand phosphate determinations were carried out by the process described by ATKINS, a small number of nitrate determinations being also carried out on samples brought for the purpose by HARVEY's method, for which a simple and accurate colorimetric process is specified.

The preliminary examination of the results have shown, as was expected, relations between the distribution of the phosphate and of the plankton, the latter occurring abundantly as a rule when the content of phosphate is high. Interesting connexions also appear between the distribution of phosphate and of oxygen; both seem to have an inherent connexion with the distribution of density. It will be the aim of further examinations to illuminate more fully these connexions.

REPORTS ON THE RESULTS OF THE SPECIAL INVESTIGATIONS CONDUCTED AT THE UNIVERSITY OF OSLO IN OCTOBER 1928

Concerning Methods for Estimating Phosphates and Nitrates in Solution in Sea Water.

A conference was convened in Oslo by Professor JOHAN HJORT and attended by the following representatives:—

Dr. KURT BUCH (Helsingfors),
Dr. T. GAARDER (Bergen),
Professor H. H. GRAN (Oslo),
Mr. W. H. HARVEY (Plymouth),
Dr. E. SCHREIBER (Heligoland),
Dr. H. WATTENBERG ("Meteor"-Expedition).

Demonstrations were given and experiments carried out during October 1928 at the Biologisk Laboratorium of the University with the assistance of Mr. T. BRAARUD, Mrs. B. FØYN, and Mr. A. KLEM. Travelling expenses were provided by the International Council.

It was considered that the following memorandum or protocol, in extension of the papers included in this publication, may be of assistance to others engaged in research upon life in the sea.

I. Estimation of Phosphates in Seawater.

The ceruleo-molybdate method as developed and used by ATKINS for the estimation of phosphates in sea water had been found by all the representatives to give satisfactory results. A short description of the principles involved is given on p. 68 of this publication. In order to make the technique simpler for waters containing small quantities of phosphate (0—20 mg. per cubic meter) and for inshore waters which are discoloured, the following notes are submitted.

If to 100 cc. of sea water there be added 2 cc. of a solution containing 2.5 % of ammonium molybdate in 38 % (by volume) sulphuric acid and two drops of a dilute solution of stannous chloride, a blue colour develops, the intensity of which is proportional over a wide range to the phosphate + arsenate in the sea water. Attention is called to the fact, mentioned by ATKINS, that addition of more stannous chloride than is needed to fully develop the blue colour may produce a yellow tint giving a blue green and not a pure blue solution. This is particularly noticeable in the case of some

Über Methoden zur Bestimmung von in Seewasser gelösten Phosphaten und Nitraten.

Von Prof. Johan Hjort wurde in Oslo eine Zusammenkunft folgender Repräsentanten veranlasst:

Dr. Kurt Buch (Helsingfors),
Dr. T. Gaarder (Bergen),
Professor H. H. Gran (Oslo),
Hr. H. W. Harvey (Plymouth),
Dr. E. Schreiber (Helgoland),
Dr. H. Wattenberg (»Meteor«-Expedition).

Im Oktober 1928 wurden im Biologischen Laboratorium der Universität die verschiedenen Methoden vorgeführt und damit Versuche angestellt, wobei Hr. T. Braarud, Hr. B. Føyn und Hr. A. Klem assistierten. Die Reisekosten wurden von der »Internationalen Meeresforschung« getragen.

Folgendes Memorandum oder Protokoll mag im Anschluss an die Vorträge, die in diesem Bande enthalten sind, für diejenigen, welche sich mit der Erforschung des Lebens im Meere beschäftigen, von Nutzen sein.

I. Bestimmung der Phosphate im Seewasser.

Von allen Repräsentanten wurde festgestellt, dass die Molybdänblau-Methode, wie sie von Atkins entwickelt und benutzt wurde, befriedigende Resultate gibt. Eine kurze Beschreibung der Methode ist auf Seite 68 dieses Bandes gegeben. Um die Technik in solchen Fällen zu vereinfachen, in denen das Wasser sehr kleine Mengen Phosphate enthält (0—20 mg/m³) oder in der Nähe der Küste gefärbt ist, soll auf folgende Punkte hingewiesen werden.

Wenn zu 100 ccm Seewasser 2 ccm einer Lösung, welche 2,5 % Ammoniummolybdat in 38-volum-prozentiger Schwefelsäure enthält, und ferner 2 Tropfen einer verdünnten Zinnchlorürlösung gegeben werden, so entsteht eine blaue Färbung, deren Intensität in einem grossen Bereich proportional dem Phosphat + Arsenatgehalt des Seewassers ist. Man muss dabei beachten, dass (nach Atkins) die Zugabe von mehr Zinnchlorür, als zur Entstehung der blauen Verbindung nötig ist, einen gelblichen Ton bewirkt, sodass eine blaugrüne und nicht eine rein blaue Lösung resultiert. Darauf ist besonders zu achten

inshore waters. It is usually sufficient to add two drops of a solution containing circa 0.25 % of $SnCl_2$ crystals in 30 % sulphuric acid. If the sea water contains much phosphate, the effect of adding more stannous chloride should be ascertained, to make sure that sufficient has been added to develop the full blue colour. This stannous-chloride solution oxidises slowly on being kept and should therefore be made up daily before use.

The blue colour produced on adding these reagents reaches its maximum in about five minutes after which it very slowly fades, hence the colour comparison should be made after five minutes and within about half an hour of adding the reagents.

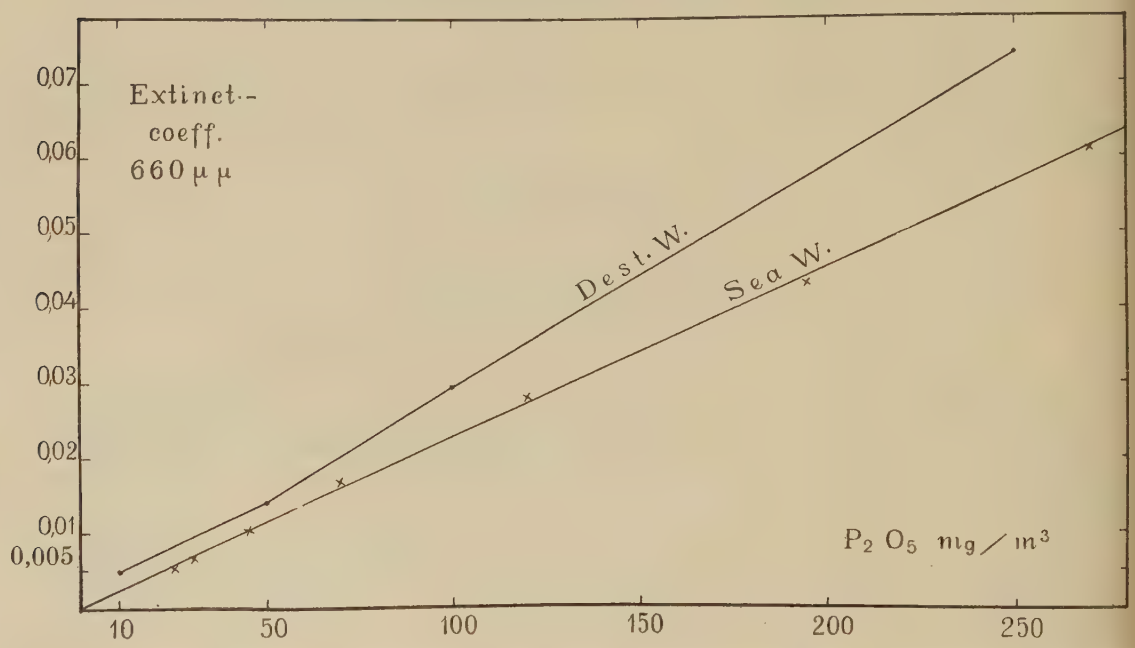


Fig. 1. Diagram shewing the absorbtion of red light (wave length 660 $\mu\mu$) by solutions of phosphate in distilled and in sea water to which the reagents have been added. (K. Buch)

Die Kurven zeigen die Absorbtion in rotem Licht (Wellenlänge 660 $\mu\mu$) von einigen mit dem Reagenz versetzten Lösungen von Phosphat in destilliertem Wasser und in Seewasser. (K. Buch)

It is satisfactory to compare the colour of a column of sea water to which the reagents have been added, with a column of a solution of KH_2PO_4[1]) to which the same reagents have been added in the same proportions. Buch has found, by means of spectrophotometer measurements, that the colour is almost proportional to the quantity of phosphate and that slightly more colour is developed by the same quantity of phosphate in distilled water as in sea water but for most biological purposes the error due to this may be neglected. Figure 1.

For the comparison of the blue colour produced in samples of sea water with that

[1]) A solution containing 0.288 milligrams of KH_2PO_4 crystals per litre contains 150 mg P_2O_5 per cubic meter, and can be preserved from the growth of moulds and algae by saturating with toluene.

n Küstengewässern. Im allgemeinen genügen 2 Tropfen einer Zinnchlorürlösung, welche a. 0,25 % $SnCl_2 + 2H_2O$ in 30 %-iger Schwefelsäure enthält. Wenn das Seewasser viel Phosphat enthält, muss man sich durch Zugabe von etwas mehr $SnCl_2$ vergewissern, ob man genügend zugefügt hat, um die volle blaue Farbe hervorzurufen. Die Zinnchlorürlösung xydiert sich beim Aufbewahren und muss deshalb jeden Tag neu hergestellt werden.

Die durch die Reagenzien hervorgerufene Farbe erreicht ihr Maximum nach ngefähr 5 Minuten, worauf sie sehr langsam schwächer wird. Die Colorimetrierung sollte ach 5 Minuten und innerhalb $^1/_2$ Stunde nach Zugabe der Reagentien geschehen.

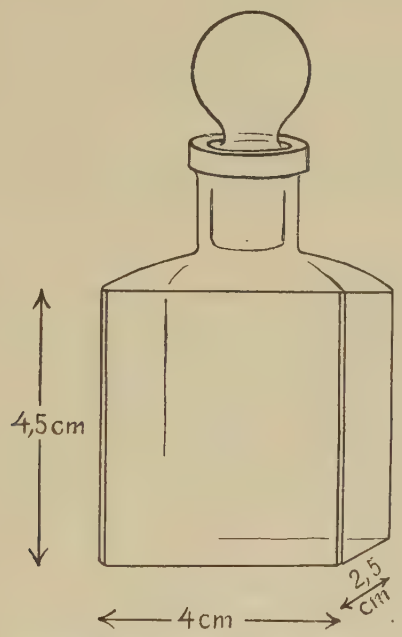


Fig. 2. Skizze eines rechteckigen Fläschchens von passenden (äusseren) Abmessungen.
Diagram of rectangular bottle shewing convenient outside dimensions.

Man erhält einwandfreie Resultate, wenn man eine Säule von Seewasser, zu dem e Reagenzien zugefügt wurden, vergleicht mit einer Säule einer Lösung von KH_2PO_4[1]), der die Reagenzien in demselben Verhältnis zugegeben wurden. Spektrophotometrisch urde gefunden (K. Buch, siehe Fig. 1), dass die Färbung dem Phosphotgehalt ziemh genau proportional ist und dass dieselbe Menge Phosphat in destilliertem Wasser u. ein wenig stärkere Farbe entwickelt als in Seewasser, doch ist ein dadurch entstender Fehler für die meisten biologischen Zwecke zu vernachlässigen.

Um die blaue Farbe, die in einer Seewasserprobe hervorgerufen wird, mit der

[1]) Eine Lösung von 0,288 mg KH_2PO_4 Krist. enthält 150 mg P_2O_5 pro Kubikmeter. Sie kann gen Pilz- und Algenwachstum durch Sättigung mit Toluol geschützt werden.

produced in a standard phosphate solution, the use is recommended of a colorimeter similar in principle to that shewn in Figure 2, page 70, which was in use at the conference. It was observed that phosphates could be determined in discoloured or turbid waters with a fair measure of accuracy, and that for waters containing less than 15 mg. P_2O_5 per cubicmetre the colour seen is sufficiently intense for comparison to be made with greater certainty and less eye strain than in the case of other methods examined.

Dr. Hermann Wattenberg has undertaken to have made a colorimeter suitable for use on board ship, embodying the principles of the instrument with which trials were carried out.

It is necessary to estimate the phosphate in samples of sea water within a reasonably short time of their being collected. If kept in the light, the included phytoplankton may reduce the quantity of phosphate present. If a protoplasmic poison is added the living organisms are killed and phosphate is likely to be given off as autolysis takes place; if kept in the dark there is little change in the phosphate content of the sample for three or four days, after which the content increases as phosphate is split off from the organisms as they die.

II. Estimation of Nitrates and Nitrites.

The quantitative method of estimating dissolved nitrates + nitrites in sea water by means of reduced strychnine and sulphuric acid had been used previous to the conference by four of the representatives. It had been found to give results which agreed *inter se*, except in the case of water containing much dissolved organic matter or many organisms. In this case part of the nitric acid set free from dissolved nitrate appears to combine with such organic matter and part only with the reduced strychnine.

The results of an investigation still in progress were communicated to the conference by Mr. Harvey and demonstrations were given. These may be summarised as follows. The reduction product or products of strychnine produced by the action of nascent hydrogen undergo change when kept dissolved in sulphuric acid, yielding a product, after about six weeks, which gives a more scarlet and more intense colour with nitrates. This scarlet colour is more readily bleached on exposure to light than the rose-red colour given by the reagent when newly made. The newly made reagent gives less colour with nitrate dissolved in distilled water than with the same quantity dissolved in nitrate-free sea water, but after keeping for 6 weeks no such difference is apparent provided sufficient hydrochloric acid is present.

A method of colour comparison and simple technique was also demonstrated. It is thought that a description of this technique in its present state of development may be useful to workers in this field of oceanography, pending the publication of investigations now in progress at Plymouth.

einer Standard-Phosphatlösung zu vergleichen, wird der Gebrauch eines Kolorimeters empfohlen, das im Princip in Fig. 2 Seite 70 angegeben ist und auch auf der Konferenz benutzt wurde. Mit diesem Apparat konnten Phosphate in gefärbtem oder trübem Wasser mit hinreichender Genauigkeit bestimmt werden, und selbst bei Wasser mit weniger als 5 mg P_2O_5/m^3 sind die Farben so stark, dass sie mit weniger Anstrengung der Augen und grösserer Sicherheit verglichen werden konnten als nach anderen Methoden, welche geprüft wurden.

Dr. Hermann Wattenberg hat es übernommen, ein Kolorimeter herstellen zu lassen, das besonders auch für den Gebrauch an Bord geeignet ist und dem dasselbe Princip zugrunde liegt, wie dem Instrument, mit dem die Versuche ausgeführt wurden.

Es ist nötig, das Phosphat in den Seewasserproben nicht zu lange Zeit nach dem Schöpfen der Proben zu bestimmen. Im Lichte kann vorhandenes Phytoplankton Phosphat verbrauchen, und wenn man ein Gift zusetzt, um die lebenden Organismen zu töten, wird wahrscheinlich Phosphat durch Autolyse frei werden. Im Dunkeln aufbewahrt ändert sich der Phosphatgehalt des Wassers 3 oder 4 Tage lang kaum; dann nimmt er langsam zu in dem Masse, als Phosphate aus den toten Organismen abgespalten werden.

II. Bestimmung der Nitrate und Nitrite.

Die quantitative Methode zur Bestimmung von in Seewasser gelösten Nitraten + Nitriten mit Hülfe von reduziertem Strychnin und Schwefelsäure wurde vor der Konferenz von vier der Repräsentanten angewendet. Es wurde gefunden, dass die Methode Resultate gibt, welche unter sich übereinstimmen, wenn das Wasser nicht viel organische Substanz oder viele Organismen enthält. In diesem Falle scheint ein Teil der aus den Nitraten freigemachten Salpetersäure mit den organischen Substanzen zu reagieren und nur ein Teil mit dem reduzierten Strychnin.

Die Ergebnisse einer noch im Gang befindlichen Untersuchung wurden auf der Konferenz von Herrn Harvey mitgeteilt und durch Versuche belegt. Sie können etwa folgendermassen zusammengefasst werden. Das oder die Reduktionsprodukte, die bei der Einwirkung von naszierendem Wasserstoff auf Strychnin entstehen, machen beim Aufbewahren in konzentrierter Schwefelsäure eine Veränderung durch, wobei nach etwa 6 Wochen ein Produkt resultiert, welches eine mehr scharlachrote und intensivere Färbung mit Nitraten gibt, als das frische. Diese scharlachrote Farbe bleicht leichter im Licht aus als die purpurrote, die ein neu hergestelltes Reagenz gibt. Aber das frisch bereitete Reagenz gibt weniger Farbe mit Nitraten, welche in destilliertem Wasser gelöst sind, als mit derselben Menge Nitrat, gelöst in nitrat-freiem Seewasser, während bei dem 6 Wochen alten Reagenz diese Unterschiede verschwunden sind, wenn nur genügend Salzsäure zugegen ist.

Eine einfache und bequeme Methode, um die entstandenen Farben zu vergleichen, wurde gleichfalls vorgeführt. Eine Beschreibung dieser Methode in ihrem augenblicklichen Stande der Entwicklung mag für diejenigen von Nutzen sein, die sich mit diesen Fragen der Ozeanographie beschäftigen; eine spätere Veröffentlichung wird über die jetzt in Plymouth im Gang befindlichen Untersuchungen berichten.

Preparation of reduced Strychnine.

About 150 grams of grannulated zinc or zinc foil (which must be free from iron) is washed first with dilute hydrochloric acid, then with 100 cc. of $^1/_4$ % mercuric chloride and finally with distilled water. This is put into a well washed flask (about $1^1/_2$ litres) with 25 cc. distilled water (distilled from alkali) and 2 grams of strychnine sulphate. Then 150—200 cc. of hydrochloric acid is added about 50 cc. at a time. Meanwbile the flask is heated on a water bath, the mouth being kept covered with a beaker. After 12 to 24 hours heating, which may be interrupted, the solution usually turns a light olive green colour. The water bath should be heated on an electric hot plate and the preparation made in a room free from any gas flame. The final volume of the solution containing reduced strychnine should be circa 100 to 125 cc.

If a red colour is produced on adding hydrochloric acid to this solution, impurity in one or more of the chemicals used is indicated.

Choice of Sulphuric Acid.

About 10 cc. from various samples of sulphuric acid are each added to 1 cc. of the reduced strychnine solution, and an acid is chosen for use which gives no colour or only a very faint pink colour, and of which the mixture with reduced strychnine when added to an equal volume of distilled water gives no more than a very faint pink colour, such as is only just apparent.

Preparation of the Reagent.

From 800 cc. tc 1 litre of the chosen sulphuric acid is added to the reduced strychnine solution prepared as above. This is best done in the open air owing to copious evolution of hydrochloric acid gas. After standing, the clear solution is decanted from the white precipitate of zinc sulphate into brown glass bottles which have previously been well washed with sulphuric acid. (Nitrate is occasionally added during manufacture to white glass). The reagent is allowed to stand for 6 weeks before use. During the preparation of the reduced strychnine and of the reagent care should be taken not to expose acid or solution to an atmosphere containing oxides of nitrogen, such as are formed in a flame.

Preparation of Colour Standards.

In the first place a solution containing 0.0061 grams sodium nitrate per litre is prepared, and a trace of mercuric chlorid added as preservative. The addition of 0.1 cc. of this standard nitrate solution to 5 cc. of water is equivalent to the addition of 20 mg. nitrate-N per cubic meter.

A number of small bottles are obtained having flat sides and the internal distance between the sides equal, or nearly so. A bottle of suitable dimensions is shewn in Figure 2. These bottles are thoroughly washed with 50 % sulphuric acid and with distilled water. About forty bottles are a convenient number to work with.

Herstellung des reduzierten Strychnins.

Ungefähr 150 Gramm granuliertes Zink oder Zinkblech (eisenfrei!) wird zunächst mit verdünnter Salzsäure gewaschen, dann mit 100 ccm 0,25 %-iger Sublimatlösung behandelt und zum Schluss mit destilliertem Wasser gewaschen. Das amalgamierte Zink wird in einem Kolben (von ca. $1^1/_2$ l) mit 25 ccm über Alkali destilliertem Wasser und 2 g Strychninsulfat versetzt und auf einem Wasserbad erhitzt. Von Zeit zu Zeit wird 50 ccm konzentrierte Salzsäure zugefügt, im ganzen ca. 150—200 ccm. Der Hals des Kolbens wird mit einem Becherglas bedeckt. Nach 12—24 stündigem Erhitzen, welches unterbrochen werden kann, bekommt die Lösung gewöhnlich eine schwach olivgrüne Farbe. Das Wasserbad muss elektrisch geheizt sein, und in demselben Raum dürfen keine Gasflammen oder Feuer brennen. Das Endvolum der Lösung des reduzierten Strychnins soll etwa 100—125 ccm betragen. Wenn eine rote Farbe bei der Zugabe der Salzsäure zu dieser Lösung entsteht, rührt dies von Verunreinigungen von einem oder mehreren der Reagenzien her.

Auswahl der Schwefelsäure.

Zu je 10 ccm verschiedener Säureproben werden je 1 ccm der reduzierten Strychninlösung gegeben und diejenige Säure ausgewählt, welche keine oder fast keine Färbung gibt, und deren Mischung mit dem reduzierten Strychnin mit einem gleichen Volum destillierten Wassers verdünnt, nicht mehr Farbe ergibt, als eben wahrgenommen werden kann.

Bereitung des Reagenzes.

800—1000 ccm der ausgewählten Schwefelsäure wird zu der Lösung des reduzierten Strychnins zugegeben, die, wie oben beschrieben, bereitet ist. Diese Operation wird am besten im Freien vorgenommen, da sich dabei grosse Mengen Salzsäuregas entwickeln. Nach dem Absitzen des Zinksulfat-Niederschlages wird die klare Lösung in braune Glasflaschen abgefüllt, die vorher gut mit konzentrierter Schwefelsäure gewaschen wurden. (Gelegentlich wird Nitrat bei der Herstellung weissen Glases verwendet). Das Reagenz soll 6 Wochen vor dem Gebrauch stehen. Während der Bereitung des reduzierten Strychnins und des Reagenzes muss man darauf achten, dass diese nicht einer Stickoxyde enthaltenden Atmosphäre ausgesetzt werden, die zum Beispiel durch brennende Flammen entstehen können.

Herstellung der Farbenstandards.

Zunächst wird eine Lösung von 0,0061 g Natriumnitrat im Liter hergestellt und etwas Sublimat zur Konservierung zugefügt. Die Zugabe von 0,1 ccm dieser Standard-Nitratlösung zu 5 ccm Wasser ist äquivalent einer Zugabe von 20 mg Nitrat-N zu 1 Kubikmeter.

Man benötigt ferner eine Anzahl kleiner Flaschen mit flachen Wänden, deren innerer Abstand gleich oder annähernd gleich sein soll. Ein Fläschchen geeigneter Dimensionen ist in Figur 2 gezeigt. Diese Flaschen werden ausgiebig mit 50 %-iger Schwefelsäure gewaschen und mit destilliertem Wasser gespült. Eine Anzahl von vierzig Flaschen dürfte für die meisten Zwecke genügen.

Then 5 cc. of distilled water and 0.3 cc. of the standard nitrate solution are put into a rectangular bottle and 6 cc. of the reagent is added. The scarlet colour produced is matched in tint with a mixture of crimson and scarlet dyes, such as the inks sold for making coloured drawings. Having ascertained the proportions of the two dyes which yield the same quality of colour, a solution of the two dyes in the same proportions is made in water having an intensity of colour two to three times greater than the colour given by the nitrate solution. Then varying quantities of this dye solution, such as 1, 3, 5, 8, 10, 13, 17, 20, 23, 26 .... cubic millimeters, are each made up to 10 cc. with distilled water and filled into rectangular bottles which are labelled 1, 3, 5, 8, 10, 13 ..... etc. in direct proportion to the quantity of dye present.

The depth or intensity of colour seen on looking through the liquid between the two flat sides of the bottles may be expressed as 1, 3, 5, 8, 10, 13 .... etc. arbitrary "units of colour".

Evaluation of the Reagent and Estimation of Nitrate.

The reagent prepared in the above manner gives a variable intensity of colour with the same quantity of nitrate according to the conditions under which it is made and the length of time it has been stored. Also each batch of reagent is likely to contain small but definite quantities of impurity owing to which it will give a few units of colour with distilled water. Hence before making determinations of nitrate in a series of sea water samples, it is necessary to know (a.) how many units of colour to subtract from the units given with the sea water, owing to impurities in the reagent and (b.) how many units of colour are produced owing to the presence of each mg of nitrate + nitrite nitrogen per cubic meter.

In order to obtain this information 6 cc. of the reagent is added to 5 cc. of the following waters in rectangular stoppered bottles which are kept in the dark for four to twenty hours, as is convenient. They are then matched against the series of colour standards and a value in "units of colour" assigned to each. As an example,

Distilled water			. + 2 drops HCl. yielding	a	units of colour			
—	—	+ 40 mg. nitrate-N per m^3.	—	—	b	—	—	
—	—	+ 80 mg. — —	—	—	c	—	—	
Sea water from surface				—	d	—	—	
—	—	+ 40 mg. nitrate-N per m^3		—	e	—	—	
—	—	+ 80 mg. — —		—	f	—	—	
Seawater sample 1.....				—	g	—	—	
—	—	2.....		—	h	—	—	
		etc.						

It should happen that $b—a = c—b = e—d = f—e$ approximately.
Then the units of colour due to each mg. of added nitrate-N averages

Es werden nun 5 ccm destilliertes Wasser und 0.3 ccm der Standard-Nitrat-Lösung in eine solche rechteckige Flasche gebracht und 6 ccm Reagenz zugegeben. Durch Mischung von purpurroten und orangeroten Farbstoffen (Ausziehtuschen o. ä.) wird eine Mischung hergestellt, die denselben Farbton wie die mit dem Nitratreagenz versetzte Lösung hat. Dann werden steigende Quantitäten dieser Farbmischung, z. B. je 1, 3, 5, 8, 10, 13, 17, 20, 23, 26 ... 55, 60, 70 ... cmm zu je 10 ccm destillierten Wassers zugegeben und die Lösung in die rechteckigen Flaschen gefüllt, die mit 1, 3, 5, 8, 10, 13 ... etc. bezeichnet werden, einfach dem Verhältnis der vorhandenen Farbquantität entsprechend.

Dann kann die Farbintensität, die man in der Durchsicht zwischen 2 flachen Seiten der Flaschen beobachtet, als 1, 3, 5, 8, 10, 13 ... etc. willkürliche »Farbeinheiten« bezeichnet werden.

Wertbestimmung des Reagenzes und Bestimmung von Nitrat.

Das, wie oben beschrieben, bereitete Reagenz gibt verschieden starke Färbungen mit denselben Nitratmengen, je nach den Bedingungen, unter denen es gemacht ist, und der Länge der Zeit, die es aufbewahrt wurde. Ebenso scheint jeder Ansatz von Reagenz mehr oder weniger geringe, aber bestimmte Mengen von Verunreinigungen zu enthalten, die eine Färbung von einigen Farbeinheiten mit destilliertem Wasser bewirken. Deshalb muss man vor der Nitratbestimmung in Seewasserproben wissen, a) wieviel Farbeinheiten für die Verunreinigungen abzuziehen sind, und b) wieviel Farbeinheiten jedem Milligramm Nitrat + Nitrit-Stickstoff pro Kubikmeter entsprechen.

Um diese Werte festzulegen, werden je 6 ccm Reagenz zu je 5 ccm der folgenden Wasserproben in die rechteckigen Fläschchen gegeben. Diese Mischungen werden im Dunkeln 4 bis 20 Stunden, je nachdem, wie es mit der Zeit passt, aufbewahrt. Dann werden die Farben mit den Farben-Standards verglichen und ihr Wert in Farbeinheiten ermittelt. Beispiel:

Dest. Wasser	+ 2 Tr. HCl gibt:	a	Farbeinheiten
— + 40 mg NO_3'-N pro m^3	—	b	—
— + 80 mg — —	—	c	—
See Wasser (Oberfläche)		d	—
— + 40 mg NO_3'-N pro m^3		e	—
— + 80 mg — —		f	—
See Wasser-Probe 1		g	—
— — 2		h	—

u. s. w.

Es sollte ungefähr $b—a = c—b = e—d = f—e$ sein. Dann ist die Anzahl Farbeinheiten, die jedes mg zugesetzter Nitrat-N gibt, im Mittel

$$\frac{(b-a)+(c-b)+(e-d)+(f-e)}{4\times 40} = x.$$

The units of colour due to impurities in the reagent = a units.

Then the nitrate contained in sea water sample 1 = $\frac{g-a}{x}$ mg. nitrate-N per m³, and the nitrate contained in sea water sample 2 = $\frac{h-a}{x}$ mg. per m³.

Sea waters which contain more than about 100 mg. nitrate-N per m³ must be diluted with distilled water, or nitrate-free sea water, because the colour produced with the reagent is no longer in linear relation to the concentration of nitrate when the nitrate exceeds a certain limit. The limit varies with the activity of the particular batch of reagent.

It must be remembered also that waters containing much organic matter may give less colour and low values for their nitrate content by this method. Where this is suspected the additional colour produced owing to the addition of a known amount of nitrate should be investigated.

Samples of sea water may be preserved from change in their nitrate content by the addition of a trace of mercuric chloride, such as one drop of a saturated solution to each sample of about 30 cc.

III. Further work in connection with the physiological analysis of sea-water.

The physiological analysis of sea-water — finding the sum of all assimilable nitrogen and phosphorus compounds by biological means, as described by SCHREIBER in his first paper — was recognised as fundamental and was consequently chosen as the basis for further investigations.

The continuation of the cultural experiments was intended first and foremost to simplify as far as possible the experimental method, with the ultimate aim of carrying out the biological investigation by simple means on board ship if desired.

These endeavours are devoted firstly towards simplifying the method of sterilization and secondly towards finding the organism most suitable for counting. The process of filtration by means of compressed air which has hitherto been employed for sterilization and which in the confined space of a ship's laboratory was not always easily carried out, may be effected by sterilization of the water samples by the addition of poisons whose sterilizing capability can be again nullified before inoculation with the organism to be counted. Investigations of this nature are at the present time still in progress and already justify us in assuming that the aim has been realized.

The second task which we had set ourselves for the common work in Oslo was the above-mentioned wish to discover an organism, which can be readily counted, being neither actively motile nor tending to stick together in masses (Palmellenhaufen).

$$\frac{(b-a)+(c-b)+(e-d)+(f-e)}{4\times 40} = x,$$

und die Einheiten, die den Verunreinigungen des Reagenzes zuzuschreiben sind, gleich a.

Der Nitratgehalt des Seewassers ist dann in Probe 1 $= \frac{g-a}{x}$ mg Nitrat-N/m³, und in Probe 2 $= \frac{h-a}{x}$ mg/m³.

Seewasser, welches mehr als etwa 100 mg Nitrat-N/m³ enthält, muss mit destilliertem Wasser oder nitratfreiem Seewasser verdünnt werden, da die mit dem Reagenz entstehende Farbe nicht mehr für viel höhere Werte linear mit der Konzentration an Nitrat steigt. Diese Grenze variiert mit der Wirksamkeit der einzelnen Reagenz-Ansätze.

Es mag daran errinnert werden, dass auch Wasser, das viel organische Substanz enthält, weniger Farbe und geringere Nitrat-Werte nach dieser Methode gibt. Wenn die entsprechende Möglichkeit vorliegt, muss man den Farbenzuwachs feststellen, den eine Zugabe bekannter Mengen Nitrat hervorruft.

Seewasserproben, welche nicht sofort untersucht werden, können durch einen Zusatz von Quecksilberchlorid konserviert werden — durch Zusatz von etwa 1 Tropfen einer gesättigten Lösung zu jeder Seewasserprobe von ca. 30 ccm.

II. Weitere Arbeiten auf dem Gebiete der physiologischen Meerwasseranalyse.

Das Prinzip der physiologischen Seewasseranalyse, auf biologischem Wege die Summe aller assimilierbaren Stickstoff- bzw. Phosphorverbindungen zu erfassen, so, wie es SCHREIBER in seiner ersten Abhandlung schildert, wurde als sachlich anerkannt und daher als Grundlage für weitere Untersuchungen gewählt.

Die Fortsetzung der Kulturexperimente sollte in erster Linie bezwecken, die ganze Versuchsmethodik nach Möglichkeit zu vereinfachen mit dem erwünschten Endziel, die Anwendung des biologischen Untersuchungsverfahrens gegebenenfalls auch mit einfachen Mitteln an Bord ausführen zu können.

Diese Bemühungen betreffen in erster Linie eine Vereinfachung der Sterilisationsart, ferner die Wahl eines möglichst zweckmässigen Zähl-Organismus. Das bisher zur Sterilisation angewandte Filtrationsverfahren mittels Druckluft, welches sich im beschränkten Raum des Schiffslaboratoriums nicht immer leicht durchführen lässt, soll durch eine Sterilisation der Wasserproben durch Zusatz flüchtiger Gifte bewirkt werden, deren sterilisierende Fähigkeit vor Einimpfung des Zähl-Organismus wieder rückgängig gemacht werden kann. Derartige Untersuchungen sind augenblicklich noch im Gange und berechtigen jetzt bereits zu der Annahme einer Verwirklichung.

Als zweites Ziel, das wir uns für die gemeinsamen Arbeiten in Oslo gesteckt hatten, war der oben erwähnte Wunsch, einen Zählorganismus ausfindig zu machen, der weder aktiv beweglich ist, noch zur Bildung von Palmellenhaufen neigt. Da sich nämlich in

Since phototropic organisms accumulate on the upper meniscus of the sea-water in the test tube cultures, the danger arises in the unstable ship's laboratory that a portion of the cells produced will dry up in the upper part of the vessels used for culture and thus not figure when the count is made. Consequently as regards the possibility of carrying out the investigations directly at sea it seems that a plankton organism which is immobile during its whole lifetime possesses certain advantages owing to the fact that multiplication of cells takes place at the bottom of the vessels used for culture until the medium is exhausted. A unicellular green alga which for a long time has been under culture and which probably belongs to the group of *Protococcales*, which form neither swarms nor palmella-like conglomerations, is to be tested in later investigations with a view to estimating the possibility of using it. As this alga, in opposition to *Carteria*, forms no "palmella stages" which cling to the walls of the vessels, it has the advantage that small samples for counting can be taken from one and the same vessel at any intervals of time desired without losing the entire culture, as is necessarily the case when "palmella-forming" organisms are used and are treated with hydrochloric acid.

In view of the above considerations which are directed towards a simplification of the experimental technique, it is quite within the bounds of possibility to simplify the biological process, the merits of which on account of its objectivity are fully recognized, to such an extent that even in the hands of non-biologists it may lead to useful results.

A simple Method for the direct Estimation of Ammonia in Sea Water by the Use of Nessler's Reagent.

By

H. Wattenberg.

(Later information).

Since it may be considered as proved that the land vegetation is able to assimilate ammonia directly, and under certain conditions even prefers it to nitrates, and that further marine plankton organisms (carteria), also in cultures free of bacteria, equally well utilize nitrogen contained in various compositions[1]), it seems advisable to pay more attention to the ammonia as a source of nitrogen for the vegetable plankton in the sea, and to determine it as a nutrient of the same value as phosphate and nitrate. That this, up to the present time, has been but relatively seldom done especially in the

[1]) E. Schreiber, Wiss. Meeresuntersuchungen, N. F. Abt. Helgoland, XVI. Bd. Abh. Nr. 10.

den erschöpften Reagenzglaskulturen phototaktisch reagierende Planktonten am oberen Meniskus der zu untersuchenden Seewasserproben ansammeln, so besteht im schwankenden Schiffslaboratorium die Gefahr, dass ein Teil der produzierten Zellen im oberen Teil der Kulturgefässe eintrocknet und so für die Zählung verloren geht. Daher scheint in Hinblick auf die Ausführungsmöglichkeit der Untersuchungen direkt auf See ein zeitlebens unbeweglicher Planktont gewisse Vorzüge deshalb zu besitzen, weil sich die Zellvermehrung bis zur Erschöpfung des Mediums lediglich am Boden der Kulturgefässe abspielt. Eine seit längerem in Kultur befindliche einzellige Grünalge, wahrscheinlich zur Gruppe der Protococcales zählend, die weder Schwärmstadien und Palmella-artige Zusammenballungen bildet, soll in späteren Untersuchungen auf ihre Verwendungsmöglichkeit geprüft werden. Da obige Alge entgegen *Carteria* keine an der Wandung der Kulturgefässe haftende Palmellastadien bildet, so besitzt deren Verwendung den Vorzug, dass aus ein- und demselben Kulturgefäss in beliebigen Zeitabständen kleine Zählproben entnommen werden können, ohne die gesamte Kultur zu opfern, wie dies notgedrungen bei Palmella-bildenden Planktonten infolge Aufkochens mit Salzsäure geschehen muss.

In Hinblick auf obige Erwägungen, die eine Vereinfachung der Untersuchungstechnik anstreben, liegt es durchaus im Bereiche der Möglichkeit, das wegen seiner Objektivität anerkannte biologische Verfahren soweit zu vereinfachen, dass es auch in den Händen des Nichtbiologen zu brauchbaren Resultaten führen wird.

Eine einfache Methode zur direkten Bestimmung von Ammoniak in Seewasser mit Nesslers Reagenz.

Von

H. Wattenberg.

(Spätere Mitteilung).

Seitdem es für erwiesen gelten kann, dass die Land-Pflanzen direkt Ammoniak verarbeiten können und unter Umständen sogar dem Nitrat vorziehen, dass ferner marine Planktonorganismen (Carteria) auch in bakterienfreier Reinkultur Stickstoff verschiedener Bindungsart gleich gut verwerten[1]), ist es angezeigt, dem Ammoniak als Stickstoffquelle für das pflanzliche Plankton im Meere grössere Beachtung zu schenken, und es neben dem Phosphat und Nitrat als gleichwertigen Nährstoff zu bestimmen. Dass dies, besonders im offenen Ozean, bisher verhältnismässig wenig geschehen ist, hatte

[1]) E. Schreiber, Wiss. Meeresuntersuchungen, N.F. Abt. Helgoland, XVI. Bd. Abh. Nr. 10.

open ocean, was not so much due to theoretical reasons, but chiefly to the lack of an easy and reliable method for the estimation of NH_3 in the very diluted solution in which it is found in sea water. Besides, former investigations had not shown marked differences in any direction, at least not in the open ocean. Whether this was in accordance with the actual conditions or whether it was due to the unreliability of the methods employed could not hitherto be decided. Any method of distillation involves always the risk of the ammonia being split off from the products of the albuminuous destructions which are contained in sea water which risk might perhaps be reduced when working at lower pressure and at a lower temperature. In any case the method of distillation is beset with the difficult working conditions which are felt all the more severely on board a research vessel.

Witting[1]) and Buch[2]) have succeeded in avoiding the distillation by treating directly with Nessler's reagent the clear siphoned solution from which the Ca- and Mg-salts had previously been precipitated by means of a lye containing carbonate and then by spectrophotometrical measuring the intensity of the colour. This theoretically important improvement is unfortunately often made illusory, especially when working with small quantities of water and great salinities and on board small steamers, the difficulty of siphoning with optically clear accuracy being great. It might perhaps be possible to adapt this method also to less favourable working conditions through appropriate filtration or centrifuging.

The best way, however, would evidently be to avoid from the beginning, by adequate admixtures, the precipitation of hydroxides of the alkaline earths through the alkaline Nessler solution and thereby be able to add the reagent to the sea water directly after the sample had been taken. A method which enables this is given in the following.

Experiments: If sea water of 35 $^0/_{00}$ salinity is treated with tartaric acid in adequate solution and with a solution of alkali, the resultant solution remains clear in the beginning, but becomes turbid in the course of more or less time and finishes by depositing a precipitate. If, however, the mixture of sea water and tartaric acid is added to the alkaline solution, the resultant solution keeps clear for hours and even for days — according to the concentration used. Hence the alkaline solution should always predominate in the mixture so as to prevent the precipitation; and thus the greater the hydroxylion-concentration the longer the solution keeps clear[3]).

If the alkaline sea water mixture is treated with ammonia salts and Nessler's

---

[1]) R. Witting, Zur Methodik der Bestimmung von geringen Ammoniakmengen mit besonderer Berücksichtigung der Meerwasseranalysen, Öfversigt af Finska Vetenskaps-Societetens Förhandlingar. Bd. LVI. 1913—1914. Afd. A. Nr. 15.

[2]) K. Buch, Über die Bestimmung von Stickstoffverbindungen und Phosphaten im Meerwasser, Rapp. & Proc.-Verb., Vol. LIII, p. 36. A criticism of the methods of distillation and further bibliography to be found here.

[3]) Already before 1899 Cl. Winkler used a similar method for the estimation of ammonia in fresh water. Chemikerzeitung 23, p. 454.

aber nicht so sehr seinen Grund in der theoretischen Einstellung, sondern vor allem auch in dem Mangel an einer bequemen und zuverlässigen Methode zur Bestimmung des NH_3 in so grosser Verdünnung, wie es im Meere vorkommt. Zudem hatten frühere Untersuchungen keine significanten Unterschiede in irgend einer Richtung, wenigstens im freien Ozean, ergeben. Ob das den tatsächlichen Verhältnissen entspricht oder an einer Unzuverlässigkeit der angewandten Methoden gelegen hat, konnte bisher nicht entschieden werden. Eine Destillationsmethode birgt ja immer die Gefahr der Abspaltung von Ammoniak aus den im Seewasser vorhandenen Eiweissabbauprodukten in sich, die vielleicht eingeschränkt werden könnte, wenn man unter vermindertem Druck bei niederer Temperatur arbeitet. In jedem Falle jedoch leidet ein Destillationsverfahren an der Umständlichkeit der Arbeitsweise, die an Bord eines Forschungsschiffes besonders stark empfunden wird.

Witting[1]) und Buch[2]) ist es gelungen, die Destillation zu vermeiden, indem sie nach Ausfällung der Ca- und Mg-Salze mit carbonathaltiger Lauge die abgeheberte klare Lösung direkt mit Nesslers Reagenz versetzten und die Farbintensität spektrophotometrisch massen. Diese wesentliche principielle Verbesserung wird leider öfter, besonders bei geringen Wassermengen und grossem Salzgehalt und an Bord kleiner Schiffe, durch die Schwierigkeit, optisch klar abhebern zu können, illusorisch gemacht. Vielleicht liesse sich durch geeignete Filtration oder Zentrifugierung diese Methode auch ungünstigeren Arbeitsbedingungen anpassen.

Am vorteilhaftesten würde es offenbar jedoch sein, durch passende Zusätze eine Ausfällung von Erdalkalihydroxyden durch die alkalische Nessler-Lösung von vornherein zu verhindern und so direkt das Seewasser nach der Probenahme mit Reagenz versetzen zu können. Eine Methode, die so zu verfahren gestattet, soll im Folgenden angegeben werden.

Versuche: Wenn man ein Seewasser von 35 ‰ Salzgehalt mit Weinsäure in geeigneter Konzentration versetzt und Alkalilauge hinzufügt, so bleibt die Lösung zunächst klar, um sich nach kürzerer oder längerer Zeit zu trüben und schliesslich einen Niederschlag abzusetzen. Fügt man jedoch das Seewasser-Weinsäuregemisch zu der Lauge, so hält sich die Lösung je nach den Konzentrationen stunden- bis tagelang klar. Die Lauge muss also immer im Überschuss sein, um die Niederschlagsbildung zu verhindern, und zwar hält sich die Lösung um so länger, je grösser die Konzentration an Hydroxylionen ist.[3])

Versetzt man nun die alkalische Seewasserlösung mit Ammonniumsalz und Ness-

---

[1]) R. Witting, Zur Methodik der Bestimmung von geringen Ammoniakmengen mit besonderer Berücksichtigung der Meerwasseranalysen, Öfversigt af Finska Vetenskaps-Societetens Förhandlingar. Bd. LVI. 1913—1914. Afd. A. Nr. 15.

[2]) K. Buch, Über die Bestimmung von Stickstoffverbindungen und Phosphaten im Meerwasser, Rapp. & Proc.-Verb., Vol. LIII, p. 36. Dort auch Kritik der Destillationsverfahren und weitere Literaturangaben.

[3]) Eine ähnliche Methode hat schon 1899 Cl. Winkler bei der Bestimmung von Ammoniak in Süsswasser benutzt. Chemikerzeitung 23, S. 454.

reagent, a yellow colour develops which is apparently about proportional to the NH_4-concentration beginning with 5—10 mgN per m^3. The lower limit of sensitiveness in favourable conditions might be 5 mgN per m^3. The colour intensity can be increased by adding more of Nessler's reagent, but the limit of sensitiveness cannot be considerably raised, as then also the minutest impurities and the special colour of the Nessler will become of importance.

As is well known some time elapses before the Nessler colour has fully developed, this being dependant on various circumstances. During the experiments the change was in short time so slow that the comparison could be made after 15 minutes. To wait more than $^1/_2$—1 hour is not advisable, first and foremost because a faint opalescence might later on, especially with very low ammonia contents, have a disturbing effect. In this connection it is worthy of notice that the faint opalescence which develops later in the solution free of NH_3 is prevented by small quantities of NH_3.

Whether tartaric acid, tartaric sodium or salt seignette is used seems not to have any influence. Generally the easily procured salt seignette (Rochelle salt, Potassium-sodium-tartrate) is used.

Description of the Method.

Reagents:

A. Salt seignette, 30 per cent. solution in water.

B. Solution of sodium hydroxide, 20 per cent. NaOH in water.

C. Nessler's Reagent (according to Treadwell):

6 g. $HgCl_2$ are dissolved in 50 ccm. warm water and precipitated with a solution of 7.4 g. KJ in 50 ccm. water. This is poured off the precipitate and treated with 5 g. KJ and a little water. To this is added a solution of 20 g. NaOH in a little water and some water, to the extent of 100 ccm., is filled up. When clear, the liquid is siphoned from the possibly formed precipitate.

D. Standard sea water:

A quantity of sea water with the same salinity as the water to be analysed is made slightly alkaline, to this is added half the quantity of distilled water and then the solution is boiled down to the original quantity. The turbidity resulting is eliminated by the addition of as little hydrocloric acid as possible, which by distillation is freed from ammonia. The water (as well as all solutions) is stored by stopping the mouth of the bottle with a U-tube filled with pumice-stone with sulphuric acid. Solutions for comparison are produced by adding a known quantity of a diluted NH_4 solution; they are to be treated exactly in the same way as the unknown solutions. The choice of solutions for comparison depends on the contents of the unknown solutions.

Instruction for preparation: 100 ccm. sea water are treated with 5 ccm. solution of salt seignette and this mixture is added slowly to 10 ccm. of the solution

lers Reagenz, so tritt Gelbfärbung ein, die scheinbar annähernd proportional der NH_4-Konzentration ist, und zwar beginnend von 5—10 mg N/m³ an. Die untere Grenze der Empfindlichkeit dürfte bei günstigen Verhältnissen 5 mg N/m³ sein. Durch vermehrten Zusatz von Nesslers Reagenz lässt sich zwar die Färbungsintensität verstärken, doch lässt sich die Empfindlichkeitsgrenze nicht wesentlich erhöhen, da auch die geringsten Verunreinigungen und die Eigenfarbe des Nesslers dadurch stärker zur Geltung kommen.

Bekanntlich vergeht einige Zeit, bis die Nesslerfarbe voll entwickelt ist, deren Dauer von verschiedenen Umständen abhängt. Bei den angestellten Versuchen war jedoch schon bald die Änderung nur noch so langsam, das man nach etwa 15 Min. vergleichen konnte. Länger als $^1/_2$—1 Stunde zu warten empfiehlt sich schon aus dem Grunde nicht, weil später, besonders bei sehr niedrigen Ammoniakgehalten eine schwache Opalescenz störend wirken könnte. Merkwürdigerweise wird nämlich die in NH_3-freien Lösungen später auftretende schwache Opalescenz schon durch geringen NH_3-Gehalt verhindert.

Ob man Weinsäure, weinsaures Natrium oder Seignette-Salz verwendet, scheint ohne Einfluss zu sein. Man wird im Allgemeinen das leicht erhältliche Seignette-Salz (Rochelle Salz, Kalium-Natrium-tartrat) benutzen.

Beschreibung der Methode.

Reagenzien:

A. Seignette-Salz, 30 %ige Lösung in Wasser.

B. Natronlauge, 20 % NaOH in Wasser.

C. Nesslers Reagenz (nach Treadwell):

6 g $HgCl_2$ werden in 50 ccm warmen Wasser gelöst und mit einer Lösung von 7,4 g KJ in 50 ccm Wasser gefällt. Es wird vom Niederschlag abgegossen und mit 5 g KJ und wenig Wasser versetzt. Dazu wird eine Lösung von 20 g NaOH in wenig Wasser gegeben und auf 100 ccm verdünnt. Nach Klarwerden wird vom ev. entstandenen Niederschlag abgehebert.

D. Standard-Seewasser:

Man macht Seewasser von ungefähr gleichem Salzgehalt wie das zu untersuchende Wasser schwach alkalisch, fügt etwa die Hälfte der Menge destilliertes Wasser hinzu und kocht auf das ursprüngliche Volum ein. Die entstandene Trübung beseitigt man durch Zufügung von möglichst wenig Salzsäure, die durch Destillation von Ammoniak befreit ist, und bewahrt das Wasser (wie alle Lösungen) unter Vorschaltung eines U-Rohres, das mit Bimstein-Schwefelsäure gefüllt ist, auf. Durch Zufügung bekannter Mengen einer verdünnten NH_4-Lösung stellt man sich die Vergleichslösungen her, die in genau derselben Weise wie die unbekannten Lösungen behandelt werden. Die Wahl der Vergleichslösungen richtet sich nach dem Gehalt der unbekannten Lösungen.

Arbeitsvorschrift: 100 ccm Seewasser werden mit 5 ccm der Seignette-Salz-Lösung versetzt und dieses Gemisch langsam unter Umschütteln zu 10 ccm der Natron-

of sodium hydroxide while stirring. To this is added 2 ccm. of the Nessler's Reagent and after a quarter to three quarters of an hour the colours are compared.

For comparing the methods it is best to use (according to H. W. HARVEY's proposal[1]) glass tubes of 2 cm. diameter and 30 cm. length, which are closed at the bottom by a round glass plate held by a short piece of rubber-tubing. It is quite filled, and for practical reasons the top-end is covered with a lens of about 20 cm. focal length, giving a big field of view by which the comparison is made easier. Between 0 and 50 mg. N per m^3 a difference of 10 mg. N per m^3 is easily to be seen so that it is possible to interpolate in between. By this method of comparing colours one avoids easily the errors which would arise in using a Dubocq-colorimetre through the invalidity of Beer's law and through the differences of clearness resulting from the various heights of the columns.

Attention is expressly drawn to the fact that it is very important for the sensitiveness that the solution of the reagents are carefully freed from NH_3 and protected against the contents of NH_3 in the air by U-tubes filled with pumice-stone with sulphuric acid.

The working out of the method was begun during a meeting which was arranged by the International Council at the initiative of Professor J. HJORT with the object of testing the methods for the estimation of phosphates and nitrates in sea water. Thanks are due to Professor HJORT for placing his laboratory at the disposal of the Council for these researches and also for his very great assistance.

---

[1]) Private information by Mr. H. W. HARVEY.

auge gegeben. Dazu werden 2 ccm des Nessler-Reagenzes gefügt und nach $^1/_4$—$^3/_4$ Stunden kolorimetriert.

Zur Kolorimetrierung benutzt man am besten (nach einem Vorschlag von H. W. Harvey.[1]) Glasrohre von 2 cm Weite und 30 cm Länge, die unten mit einem runden Glasplättchen verschlossen sind, die durch ein kurzes Stück Gummischlauch gehalten werden. Man füllt ganz voll und bedeckt oben zweckmässig mit einer Linse von etwa 20 cm Brennweite, wodurch man ein grosses Gesichtsfeld bekommt, was den Vergleich sehr erleichtert. Zwischen 0 und 50 mg N/m^3 ist eine Differenz von 10 mg N/m^3 gut zu sehen, sodass dazwischen noch interpoliert werden kann. Durch diese Art der Kolorimetrierung vermeidet man auf einfache Art die Fehler, die durch die Ungültigkeit des Beerschen Gesetzes und die durch verschiedene Schichthöhen bedingten Unterschiede in der Helligkeit bei einem nach dem Dubosq-Prinzip konstruierten Kolorimeter entstehen würden.

Es mag noch ausdrücklich darauf hingewiesen werden, dass es für die Empfindlichkeit sehr wichtig ist, dass die Reagenzlösungen sorgfältig von NH_3 zu befreien sind und vor dem NH_3-Gehalt der Luft durch Bimstein-Schwefelsäure U-Rohre zu schützen sind.

Die Ausarbeitung der Methode wurde gelegentlich der von der Internationalen Meeresforschung auf Anregung von Prof. J. Hjort veranstalteten Zusammenkunft zum Zweck der Prüfung der Methoden zur Bestimmung von Phosphor- und Stickstoffverbindungen im Meere in Angriff genommen. Herrn Prof. Hjort, der sein Laboratorium für diese Zwecke zur Verfügung stellte, sei auch an dieser Stelle für seine weitgehende Unterstützung gedankt.

[1]) Privatmitteilung von Herrn H. W. Harvey.